EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
R. MATTHEY (Lausanne) · A. v. MURALT (Bern) · L. RUZICKA (Zürich) · J. WEIGLE (Genève-Pasadena)
Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE — SCHWEIZ — SVIZZERA — SWITZERLAND

Vol. VIII. – Fasc. 8 | 15. VIII. 1952 | Fr. 3.–

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

F. Baltzer: Experimentelle Beiträge zur Frage der Homologie 285

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

J. Hoerni and W. A. Wooster: The Diffuse X-Ray Reflections from Diamond 297
S. Fallab und H. Erlenmeyer: Zur Kenntnis des Isonikotinsäurehydrazid-Cu-Komplexes 298
M. Frankel, M. Breuer, and S. Cordova: Synthesis of Poly-O-acetylserine and of Polyserine 299
E. Steinmann: Contribution to the Structure of Granular Chloroplasts 300
X. Millott: The Occurrence of Melanin and Phenolases in *Holothuria forskali* Delle Chiaje 301
G. Turian: Caroténoïdes et différenciation sexuelle chez *Allomyces* 302
A. Locker und H. Siedek: Hemmung der Gehirnatmung durch Alkylphosphate *in vitro* 302
V. G. Longo e N. Di Ferrante: Effetti della leucotomia prefrontale sull'azione anoressica della Benzedrina 303
V. Vidović: Kälte- und Hypoxietoleranz von Rattenembryonen 304
Nora Bargoni, M. Cafiero, S. Di Bella, E. De Mori, and M. A. Grillo: Effect of a Protein Deficient Diet upon some Enzymatic Activities of the Brain, Lung, and Kidney of Rats 306
A. Pletscher, A. Bernstein und H. Staub: Beschleunigung des Alkoholabbaus durch Fruktose beim Menschen 307
S. N. Iyer and C. R. Krishna Murti: A Micro Method for the Assay of Arginase Activity in Tissue Homogenates (Pro Laboratorio) 308

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Stratigraphy and Sedimentation. By W. C. Krumbein and L. L. Sloss (Freeman & Co., San Francisco, 1951) (Ref. A. Cailleux) 310
Chemische Untersuchung von Arzneigemischen, Arzneispezialitäten und Giftstoffen. Von Eugen Bamann und Elsa Ullmann (Selbstverlag des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München 1951) (Ref. A. Stoll) 310
The Enzymes, Vol. I, part 1 and 2, Vol. II, part 1. Edited by James B. Sumner and Karl Myrbäck (Academic Press Incorp., New York, 1951) (Ref. A. J. Businger) 310
Pflanzliche Infektionslehre, 2. erweiterte Auflage. Von E. Gäumann (Verlag Birkhäuser AG., Basel 1951) (Ref. A. Grumbach) 311
Die rote Waldameise im Dienste der Waldhygiene. Von K. Gösswald (Metta-Kinau-Verlag, Lüneburg 1952) (Ref. H. Kutter) 311

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: K. Felix: Zur Chemie des Zellkerns 312
Studiorum progressus: G. V. Heyndrickx and A. De Vleeschauwer: Electrophoretic Studies of Milk 317
Explicationes: D. A. Kotsovsky: Fundamentals for Prophylaxis and Therapy of Premature Ageing 320
In Memoriam Kurt-H. Meyer 323
Corrigendum 324

EXPERIENTIA

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi*, in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni*, come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natura, science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings*, as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît e 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.–. Abonnement pour un an fr. 28.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant.

Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à part de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces: $^1/_1$ page fr. 220.— ,$^1/_2$ page fr. 132.—, $^1/_4$ page fr. 77.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A.. Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.—, im Ausland sFr. 34.—; die Einzelnummer kostet Fr. 3.–.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 ×21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 220.—, $^1/_2$ Seite Fr. 132.— $^1/_4$ Seite Fr. 77.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA esce a 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.–. L'abbonamento annuo è di fr. 28.— per la Svizzera; all'estero fr. 34.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 ×21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci: $^1/_1$ pag. fr. 220.—, $^1/_2$ pag. fr. 132.—, $^1/_4$ pag. fr. 77.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.–, by annual subscription by inland-mail fr. 28.—; other countries fr. 34.—. Prices in Swiss currency. All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 ×21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 220.—, $^1/_2$ page fr. 132.—, $^1/_4$ page fr. 77.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia VIII/8

Strübin & Co., Basel
Verlag Birkhäuser AG., Basel
Pest Control Ltd., Bourn, Cambridge
Biological Abstracts, Philadelphia
CIBA AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
Sandoz AG., Basel
Hans Huber Verlag, Bern

FOKAL-F

Appareil pour Electrophorèse à très grand pouvoir séparateur, commande et fonctionnement automatique.

Electrophoresis Apparatus of maximum resolving power, fully automatic in operation and self-timing.

pour Macro-Electrophorèse: diagrammes directs (Svensson) – diagrammes Philpot – diagrammes inversés (courbe noire sur fond blanc) – mesures de diffusion – essais de séparation.

for Macro-Electrophoresis: direct diagram recording (Svensson) – shadow diagram method (Philpot) – wire recordings (inverse diagram recording) – diffusion measurements – preparative experiments.

pour Micro-Electrophorèse par voie interférométrique.

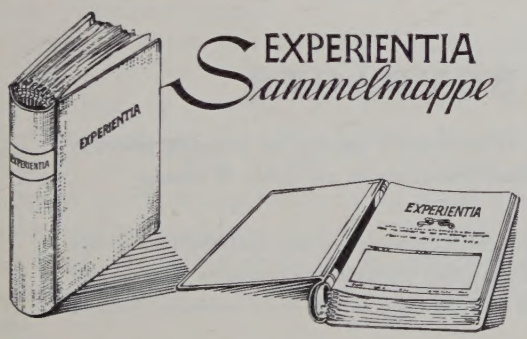
for Micro-Electrophoresis interferometric recordings.

STRÜBIN

Strübin Optical Co.

Gerbergasse 25

Basle / Switzerland
Bâle / Suisse



EXPERIENTIA *Sammelmappe*

Diese Mappe hat den Zweck, die Hefte des laufenden Jahrganges zusammenzuhalten, bevor der komplette Jahrgang gebunden werden kann. Die einzelnen Hefte können mittels einer neuartigen patentierten Haltevorrichtung in die Mappe eingeheftet und im Bedarfsfall wieder herausgelöst werden. Mit dieser geschmackvoll in Kunstleder gebundenen Mappe soll dem Übelstand abgeholfen werden, daß einzelne Hefte im Laufe des Jahres verloren gehen und vor dem Einbinden nachbezogen werden müssen. Die Sammelmappe ist so massiv konstruiert, daß sie ihren Dienst auf Jahre hinaus leisten wird.

Preis in Kunstleder gebunden: Fr. 6.75

BESTELLSCHEIN

An den VERLAG BIRKHÄUSER AG., BASEL 10 (Schweiz)
Ich bestelle... Sammelmappe(n) zum Preise von Fr. 6.75

Name: Vorname:

Ort: Straße:

Bitte in Blockschrift schreiben

Gesucht

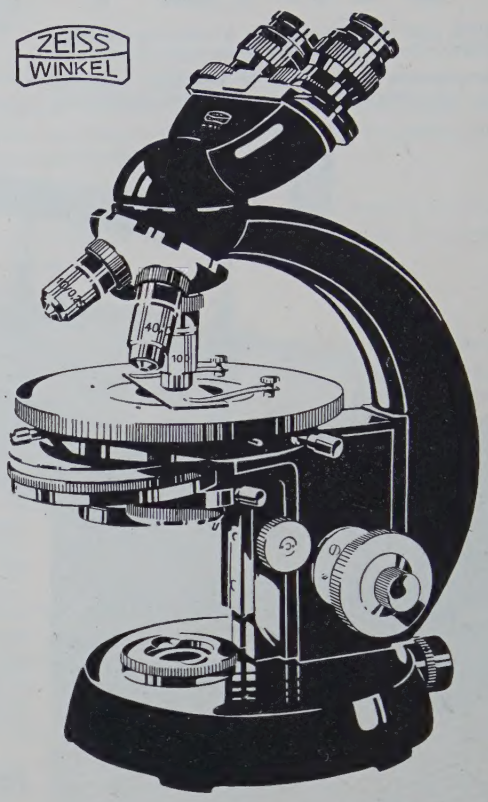
Botaniker oder Landwirt

mit ausgezeichneten theoretischen und praktischen Kenntnissen für Forschungsarbeiten im Sudan. Kenntnis der englischen Sprache und Erfahrung in der chemischen Unkrautbekämpfung erforderlich. Gehalt je nach Erfahrung ab £ 1000/-/- jährlich, derzeit steuerfrei, freie Wohnung, 3 Monate Heimaturlaub im Jahr: nach 2 Jahren weitere Verwendung in Europa. Anträge ehestens an Personnel Manager, PEST CONTROL LTD., Bourn, Cambridge, England

NEUES ZEISS-WINKEL STANDARD-MIKROSKOP GF 524

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung** (Köhlersches Prinzip) für subjektive Beobachtung und Mikrophotographie
- **Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Neuartiger Gleittisch (Fettfriktion)**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrößerungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**
- **Neue Achromate und Neofluare**



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
Bahnhofstraße 40
Tel. (051) 23 97 73
Zürich

BIOLOGICAL ABSTRACTS

A cooperative undertaking by biologists themselves to provide a means for keeping abreast of the rapidly growing and increasingly diversified literature in all fields of biology.

No individual possibly could read the thousands of journals containing significant contributions to the biological sciences. It is well known that much needless effort has been expended on problems that already had been solved. That is why a comprehensive abstracting and indexing service is so necessary both in research and in teaching.

Biological Abstracts covers all the important journals in the United States and many throughout the entire world. Publishing close to 40 000 abstracts annually, it affords the only means by which biologists can keep posted on the work of others in all fields of biology. The annual subscription price of $50.00 (U. S. funds) is low because more than 3000 biologists contribute their services for little or no remuneration.

Biological Abstracts also is published in nine low-priced sectional editions specially designed for individuals who are interested only in one or more closely related fields.

The Back Volumes from Volume I (1927) to date still are available.

Write for complete information

BIOLOGICAL ABSTRACTS

UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA PHILADELPHIA 4, PA., U.S.A.

EXPERIENTIA

Vol. VIII - Fasc. 8 Pag. 285–324 15. VIII. 1952

Experimentelle Beiträge zur Frage der Homologie[1]

Xenoplastische Transplantationen bei Amphibien

Von F. BALTZER[2], Bern

Für die Erklärung der stammesgeschichtlichen Entwicklung werden je nach dem Standpunkt des Forschers verschiedene Faktoren in Anspruch genommen. Die grundlegende Voraussetzung ist dabei dieselbe und durch eine ausserordentliche Fülle fossilen Materials gegeben: dass sich die heutigen Formen aus früheren, andersartigen und diese noch früher aus wieder anderen Formen entwickelt haben. Ist dies unbestritten, so ist doch schon die Frage kontrovers, welche *heute* beobachtbaren Veränderungen auf diese Stammesgeschichte im grossen übertragen werden können. Den Anhängern der Mutationslehre genügen die von den Genetikern festgestellten Mutanten. Zahlreiche kleine Mutationsschritte sollen sich zu grossen und systematisch fundamentalen Unterschieden summieren und kombinieren können – eine Anschauung, die um so theoretischer wird, je grössere stammesgeschichtliche Umwandlungen wir betrachten, wie etwa die Entfaltung der Wirbeltiergruppen.

Anderen Forschern scheint dieser Weg ungangbar. Man lese neuerdings VANDEL[3]: «La réalité de la mutation est hors de question; son importance en génétique incontestable. Sans les mutations, la génétique n'existerait pas... Mais hérédité et évolution ne se confondent point, et apparaissent bien plutôt comme les deux tendances opposées du vivant: la stabilité et le changement. On est en droit de se demander si la mutation correspond effectivement à la variation évolutive.»

Ein zweites Problem wird dadurch gestellt, dass die Organismen in ihrem Bau und ihrem Verhalten an ihre Umwelt angepasst sind. Die Erklärung dieser Tatsache wird von den einen Forschern in der Selektion des Passendsten gesehen – in dieser Richtung bewegt sich das bekannte Buch HUXLEYS[4]. Oder es wird die Orthogenese stärker betont, wie von CUÉNOT[1]: «De même que l'ontogenèse est préparante du futur de l'individu, les orthogenèses sont préparantes du futur des lignées.» Die Ausgangstypen von Stammreihen sollen ein «potentiel évolutif» haben.

Gegenüber diesen Unsicherheiten sind sich andererseits wohl alle Forscher wenigstens in einer grundsätzlichen Richtung einig: Man betrachtet heute die Evolution *primär* nicht mehr als eine Evolution der erwachsenen Formen wie zur Zeit der Formulierung des «biogenetischen Grundgesetzes» durch HAECKEL, sondern als eine Evolution der *Keimzellen*. Wenn *diese* von primären Veränderungen betroffen werden, gleichgültig aus welchen Ursachen, ändern sich als Folge die Faktoren der Embryonalentwicklung. Damit entstehen abgeänderte Embryonalstadien bis hinauf zu einer abgeänderten, erwachsenen Form.

Von dieser allgemein angenommenen Grundlage aus gehört die entwicklungsphysiologische Betrachtung neben der Genetik als zentraler Teil in den Rahmen des Evolutionsproblems hinein, eine Forderung, die schon vor 60 Jahren von W. ROUX[2] ausgesprochen wurde, damals aber nur ein Postulat sein konnte.

Wir müssen hier kurz die Gesichtspunkte der beschreibenden und der experimentellen Methode einander gegenüberstellen. Seit rund 120 Jahren hat die deskriptive vergleichende Entwicklungsgeschichte an stammesgeschichtlichen Problemen mitgewirkt. Sie hatte zusammen mit der vergleichenden Anatomie grundlegende morphologische Prinzipien ausgearbeitet, dasjenige der Homologie und der Typenähnlichkeit, und sie mit dem Gedanken der stammesgeschichtlichen Verwandtschaft verbunden. Dabei bildet der Nachweis von Homologien das Tatsachenmaterial, die Postulierung der stammesgeschichtlichen Verwandtschaft die aus ihnen folgende Deutung.

Obgleich der Begriff der Homologie einen Angelpunkt bildet, herrscht doch über seine Definition eine erhebliche Unsicherheit (vgl. HAAS und SIMPSON[3]).

[1] Mit Unterstützung der *Stiftung Dr. J. de Giacomi* der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft und der *Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der bernischen Hochschule.* Der Verfasser möchte beiden Stiftungen für ihre tatkräftige Hilfe den besten Dank aussprechen und dankt zugleich seinen Mitarbeitern G. ANDRES, H. ROTH, G. WAGNER und P. S. CHEN.

[2] Zoologisches Institut der Universität Bern.

[3] A. VANDEL, *Analyse de quelques tendances de l'évolutionisme contemporain*, Revue scientifique, N° 3309 (Les Editions de la Revue scintifique, Paris, 1951).

[4] J. HUXLEY, *Evolution, the modern synthesis* (George Allen & Unwin, London, 1945).

[1] L. CUÉNOT, *L'évolution biologique* (Masson, Paris 1951), S. 537.

[2] W. ROUX, *Ziele und Wege der Entwicklungsmechanik*, Ges. Abh. Bd. *2*, Nr. 15 (Engelmann, Leipzig 1895). Auch in MERKEL-BONNET, *Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte*, Bd. II, Bergmann, Wiesbaden 1892).

[3] O. HAAS und G. G. SIMPSON, Proc. Amer. Philos. Soc. *90*, 319 (1946).

Wir definieren hier: Homologe Organe entstehen aus gleichwertigen «typisch ähnlichen», morphologisch sichtbaren Anlagen; sie sind äquivalent in ihrem Bauplan und ihrer topographischen Beziehung zu den anderen Körperbereichen. Diese Ähnlichkeit ist vor allem für die embryonale Entwicklung zu fordern. Sie braucht nicht bis zum Erwachsenenzustand bestehen zu bleiben. So hat das Skelett der vorderen Gliedmassen aller höheren Wirbeltiere den gleichen homologen Bauplan, handle es sich nun um das Vorderbein eines Hundes oder Pferdes, um den Flügel einer Fledermaus oder eines Vogels, um die Flosse eines Wales oder um den Arm eines Menschen.

Die Deutung, dass homologe Organe auf gleicher Abstammung beruhen, hat eine ausserordentliche Tragweite. Sie bilden damit das Fundament für das natürliche System und sind neben den Befunden der Paläontologie die Grundlage für unsere stammesgeschichtlichen Vorstellungen.

Schon morphologische Untersuchungen haben jedoch zu einer elastischeren Fassung des Homologiebegriffs genötigt. So ist die oben erwähnte Forderung einer gleichen Einordnung homologer Organe und einer gleichen Aufteilung der Gesamtorganisation nur mit Einschränkung zu halten. Ein besonders eindrucksvolles Beispiel sind (nach Severtzoff[1]) die Reptilienarten, bei denen die Gliedmassen verkürzt oder völlig rückgebildet sind und der Körper verlängert ist (wie bei unserer Blindschleiche und bei den Schlangen). Die Zahl der Somiten und damit auch der Wirbel wird auf das 2–3fache vermehrt. Der einzelne Somit und Wirbel hat dann kein genaues Homologon zu den Somiten bei den Ausgangsformen mehr, wohl aber besteht eine Homologie in der Somitengesamtheit und im Prinzip der segmentalen Aufteilung des Mesoderms. Cuénot versucht, aber doch wohl unzureichend, diesen Befund entwicklungsphysiologisch zu erklären. «L'augmentation considérable du nombre des vertèbres... résulte d'un changement embryonnaire dans le rythme de la ségmentation du corps[2].» – Ähnliche Verhältnisse, wenn auch nicht so extrem, finden wir auch bei den beiden Ordnungen der Amphibien, mit denen wir uns im folgenden näher beschäftigen werden. Die Urodelen mit zahlreichen und die Anuren mit wenigen Segmenten sind nicht Segment für Segment vergleichbar.

Wir begegnen tieferen und grundsätzlichen Schwierigkeiten, wenn wir den Homologiebegriff entwicklungsphysiologisch-genetisch zu fassen versuchen. Sie liegen schon in der oben wiedergegebenen Anschauung, wonach die Keimzellen und nicht die erwachsenen Formen die primären Träger der Stammesgeschichte sind. Sie steigern sich weiter, wenn wir die Embryonalentwicklung als Trägerin von Homologien nicht nur morphologisch, sondern entwicklungsphysiologisch betrachten. Hierauf hat schon Spemann 1915[1] in einem auch heute noch aktuellen Aufsatz nachdrücklich hingewiesen. «Es scheint», sagt der Autor, «dass der Homologiebegriff in der Fassung der historischen Periode sich unter unseren Händen auflöst, wenn wir auf kausalem Gebiet mit ihm arbeiten wollen.»

Im folgenden soll dieses Problem, das nicht nur Homologie und Stammesgeschichte, sondern gleichzeitig auch das Verhältnis der vergleichend-morphologischen und der entwicklungsphysiologischen Betrachtungsweise berührt, auf Grund experimenteller Ergebnisse untersucht werden.

*

Bei sehr ähnlicher morphologischer Entwicklung sind naturgemäss auch ähnliche entwicklungsphysiologische Verhältnisse zu erwarten. Bei divergenter Entwicklung verwandter Formen aber stellt sich die Frage, in welchem Grade auch entsprechend geänderte entwicklungsphysiologische Systeme vorausgehen. Ein Weg, diese Frage der Lösung näher zu führen, ist die *xenoplastische Transplantation.* Bei diesem Experiment werden Keimbereiche von systematisch und morphologisch stark verschiedenen Arten mit divergenter Entwicklung zu einer Einheit, einer «Chimäre» kombiniert, und diese wird in ihrer weiteren Entwicklung verfolgt. Naturgemäss kommen hiefür nur Gruppen in Frage, bei denen sich überhaupt xenoplastisch transplantieren lässt, also vor allem die Amphibien. Man kann relativ leicht Material von Anurenkeimen in Urodelenkeime überpflanzen und umgekehrt und diese «Ordnungschimären» auch bis zu Larven weiterzüchten.

Im folgenden sind die Experimente dieser Art, die wir hier in Bern seit zahlreichen Jahren ausführten, in den Vordergrund gestellt. Es ist kaum nötig, hinzuzufügen, dass Arbeiten anderer Autoren vorausgegangen sind. (Harrison[2], Mangold[3], Spemann-Schotté[4], Spemann[5], Holtfreter[6], Rotmann[7], Oppenheimer[8]).

Solche xenoplastische Kombinationen haben zunächst auch ohne den Gesichtspunkt der Homologie ihren grossen entwicklungsphysiologischen Wert und können tiefer in die kausale Analyse der embryonalen Entwicklung der Amphibien hineinführen als homoplastische Kombinationen. Sie lassen aber experimen-

[1] A. N. Severtzoff, *Morphologische Gesetzmässigkeiten der Evolution* (G. Fischer, Jena 1931).

[2] L. Cuénot, *L'évolution biologique* (Masson, Paris 1951), S. 48.

[1] H. Spemann, *Zur Geschichte und Kritik des Begriffs der Homologie* (in «Kultur der Gegenwart», hg. v. P. Hinneberg, Bd. I. *Allgemeine Biologie* (B. G. Teubner, Leipzig 1915), S. 63, 84.

[2] R. G. Harrison, *Heteroplastic grafting in Embryology*, The Harvey lectures, 1933/34, S. 116. – Ferner: J. exp. Zool. *41*, 349 (1925).

[3] O. Mangold, Naturwissenschaften *19*, 905 (1931); *37*, 365 (1950).

[4] H. Spemann und O. Schotté, Naturwissenschaften *20*, 463 (1932).

[5] H. Spemann, *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung* (J. Springer, Berlin 1936).

[6] J. Holtfreter, Roux' Arch. *133*, 367 und 427 (1935).

[7] E. Rotmann, Decheniana (Bonn) *100* B, 51 (1941); ferner: Verh. dtsch. Zool. Ges. *1935*, 76.

[8] J. M. Oppenheimer, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *34*, 461 (1936). Ferner: J. exp. Zool. *80*, 391 (1939).

tell auch stammesgeschichtliche Beziehungen erkennen, indem sie uns zeigen, in welchem Grade in der Herkunft eines Organs allgemeine und spezialisierte Anteile enthalten sind.

Als Material für unsere Transplantationen dienten die jungen Keime der Unke (*Bombinator*) und des Molches (*Triton*). Die Larven dieser beiden Formen sind sich in einer Reihe von Organen recht ähnlich (Gehirn, Rückenmark, Auge, Labyrinth), in anderen stark verschieden (Haftorgane, Somitenzahl). Wieder andere Organe kommen nur im einen Larventypus vor (Hornplatten als Raspelapparat bei Anurenlarven, echte Zähne bei Tritonlarven). Damit hat auch die embryonale Xenoplastik mannigfaltige Möglichkeiten:

1. Es kann das Material zu Organen verpflanzt werden, die sich in beiden Partnern ähnlich entwickeln, deren Homologie damit ausser Frage steht. Die wesentliche Divergenz liegt dann vor allem in Unterschieden des Wachstums, der Gewebemenge und der Arealgrössen. Als besonders schönen Fall dieser Art, bei dem das fremde Organ auch zur typischen Funktion kommt, sollen hier *xenoplastische Labyrinthe* betrachtet werden.

2. Es kann andererseits das Material für Organe ausgetauscht werden, die zwar in beiden Vertretern vorhanden sind, sich aber bei den beiden Arten doch so verschieden entwickeln, dass eine Homologie zweifelhaft ist. Ein solches Beispiel werden wir bei den larvalen *Haftorganen* und *einzelnen* Teilen des *Viszeralskeletts* finden.

3. Endlich kann das Material für Organe transplantiert werden, die im fremden Partner überhaupt kein Äquivalent haben. Ein Beispiel sind die Hornplatten in dem berühmten Experiment von SPEMANN-SCHOTTÉ[1]. Wenn sich solche Organe xenoplastisch im fremden Wirt entwickeln, stellt sich die Frage, in welchem Grad auch sie hier Wirtshilfe erhalten haben. Damit wird auch hier das Problem der Homologie (besser: der Homodynamie) berührt, obgleich eine Homologie im morphologischen Sinn überhaupt nicht vorhanden ist.

Die Analyse macht einige schärfere begriffliche Bezeichnungen notwendig. Wir werden den Terminus homolog dort brauchen, wo es sich um *morphologisch sichtbares* äquivalentes *Material* handelt. Dagegen bezeichnen wir eine *entwicklungsphysiologische* und als solche unsichtbare Äquivalenz als Homo*dynamie* (vgl. BALTZER[2]). Dabei ist nicht zu verkennen, dass es Übergänge gibt: Es kann ein Gewebe der Urodelen- und Anurenentwicklung zuerst als homodynamer Induktor, dann aber als homologes organbildendes Material äquivalent sein.

Eine zweite Präzisierung betrifft einige entwicklungsphysiologische Ausdrücke. Ein Beispiel mag zur Erklärung genügen:

Wenn ein noch nicht determiniertes Stück Bauchektoderm der jungen Bombinatorgastrula in den Kopfneuralwulst einer Tritonneurula gesetzt wird (wie in Abb. 1 *b*, *BoJ*, dorsaler Teil), so wird dieses Xenoplantat *ortsgemäss* auch zu Neuralwulst determiniert. Es wandert als solches in den Bereich des später zu bildenden Viszeralskeletts des Wirtes und nimmt an der Bildung von dessen Viszeralskelett teil. Es verhält sich damit *wirtsgemäss*. Zugleich aber entwickelt es art*begrenzt* die Formcharaktere des Viszeralskeletts von *Bombinator*.

*

1. *Xenoplastische Labyrinthe* (G. ANDRES[1]). Die Darlegung sei hier auf einen Hauptversuch beschränkt, der in Abbildung 1 schematisch wiedergegeben ist. Der Autor hat nicht unterlagertes Ektoderm der Bombinatorgastrula in den seitlichen vorderen Kopfbereich der Tritonneurula verpflanzt, wo später das Labyrinth gebildet wird (Abb. 1 *a* und 1 *b*, *BoJ*). In der Gastrula ist dieses Organ noch nicht vorhanden und auch noch nicht determiniert. Dies geschieht erst im Neurulastadium, wobei mehrere benachbarte Kopfbereiche als Induktoren wirken (Kopfdarm, Nachhirn, Mesektoderm). Die Einzelheiten der Induktion sollen uns hier nicht beschäftigen.

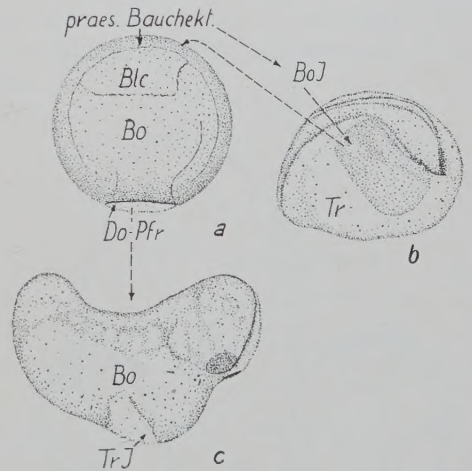


Abb. 1. Experiment von G. ANDRES (Genetica *24*, Abb. 1 [1949]), zur Entwicklung von Bombinatorlabyrinthen in *Triton*. Erklärung im Text.
a Junge Bombinatorgastrula (Spender). – *b* Tritonneurula mit Bombinatorimplantat, 6 Stunden nach Operation. – *c* Bombinatorspender mit Tritonimplantat auf der Bauchseite nach 1½ Tagen. *Blc* Blastocoel, *Bo* Bombinator, *BJ* Bombinatorimplantat, *Tr Triton*, *TrJ* Tritonimplantat.

In 106 Versuchen von ANDRES entwickelte sich in 101 Fällen ein Labyrinth, also in 95%. Die xenoplastischen Labyrinthe erreichen verschiedene Realisationsgrade (vgl. LEHMANN[2], ANDRES[3]). Uns sollen hier nur

[1] H. SPEMANN und O. SCHOTTÉ, Naturwissenschaften *20*, 463, (1932).
[2] F. BALTZER, Rev. suisse Zool. *57*, 451 (1950); *57*, 93 (1950) Supplement.

[1] G. ANDRES, Genetica *24*, 1 (1949). – Z. vergl. Physiol. *32*, 1 (1950).
[2] F. E. LEHMANN, 8. Jber. Schweiz. Ges. Vererbungsforsch. Arch. Julius-Klaus-Stiftung *23*, 568 (1948).
[3] G. ANDRES, 8. Jber. Schweiz. Ges. Vererbungsforsch. Arch. Julius-Klaus-Stiftung *23*, 562 (1948).

die optimalen Fälle beschäftigen. Das fremde Material bildet, vom Wirt induziert, am richtigen Ort ein vollständiges Sinnesorgan aus. Dieses hat in allen Einzelheiten Bombinatoreigenschaften. Es wächst auch im Tritonkopf wie im reinen *Bombinator* etwas rascher als das Tritonlabyrinth, wird grösser und differenziert sich etwas schneller (Abb. 2, *B*-Lab. links, *T*-Lab. rechts).

Auch späte Entwicklungsvorgänge verlaufen in der xenoplastischen Kombination richtig und normal. Ein Beispiel bildet die Entwicklung der knorpeligen Labyrinthkapsel.

Wenn das häutige Labyrinth seine endgültige larvale Form mit Bogengängen, Utriculus und Sacculus erreicht hat (etwa am zehnten Tag), wird das umliegende Mesoderm zur Bildung einer knorpeligen Kapsel induziert. Die Induktion geht, wie man aus anderen Versuchen weiss, vom häutigen Labyrinth aus. In der Chimäre gehört das häutige Labyrinth *Bombinator*, das umliegende Mesoderm dem Wirt (*Triton*) an. Auch hier wird diese Kapsel in typischer Form und zur richtigen Zeit ausgebildet. Der in Abbildung 2 dargestellte, 17 Tage alte Keim hat auf der linken Seite zu dem normalen xenoplastischen Bombinatorlabyrinth eine typische Tritonknorpelkapsel geliefert. Dabei bildet sich auch an der richtigen Stelle eine typische Fenestra vestibularis.

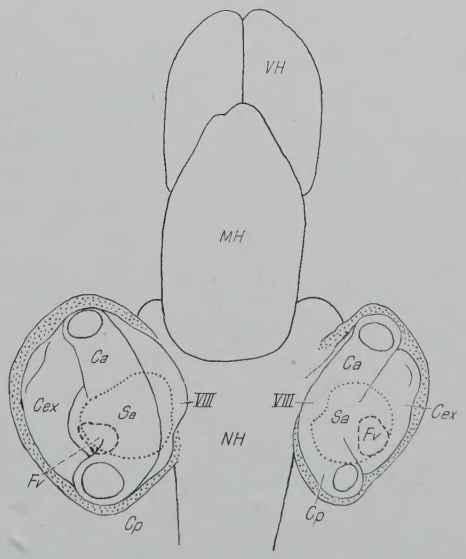


Abb. 2. Gehirn und Labyrinthe einer Tritonlarve aus Operation Abbildung 1*b*. Larve, 17 Tage nach Operation fixiert. Rechts wirteigenes Triton-, links xenoplastisches Bombinatorlabyrinth. Um beide haben sich Knorpelkapseln (punktiert mit Vestibularfenster [*Fv*]) ausgebildet. *Ca*, *Cp*, *Cex* vorderer, hinterer, äusserer Bogengang. *VIII* Abgang des Labyrinthnervs. *Sa* Sacculus. *VH*, *MH*, *NH* Vorder-, Mittel- und Nachhirn.

Nach G. Andres, Genetica *24*, Abb. 31 und 32 (1949) kombiniert.

Ebenso wichtig wie die Frage der artbegrenzten und wirtsgemässen Entwicklung ist für uns hier das Problem des Anschlusses der Labyrinthnerven an das Nachhirn des Wirtes. Es bilden sich normale xenoplastische Labnerven aus (Abb. 3, *R VIII Bo*). Die fremden Nervenfasern (Neuriten) von *Bombinator* dringen an der richtigen Stelle in das Nachhirn von *Triton* ein, dort, wo sich das Ausstrahlungsgebiet der Mauthnerschen Riesenzelle befindet (Abb. 3, *R VIII Bo*, *Mz*). Das Einstrahlungsbild entspricht demjenigen der nicht operierten Wirtsseite. Über die feinere Verbindung sind wir nicht unterrichtet, da keine spezifischen Nervenfärbungen angewandt wurden.

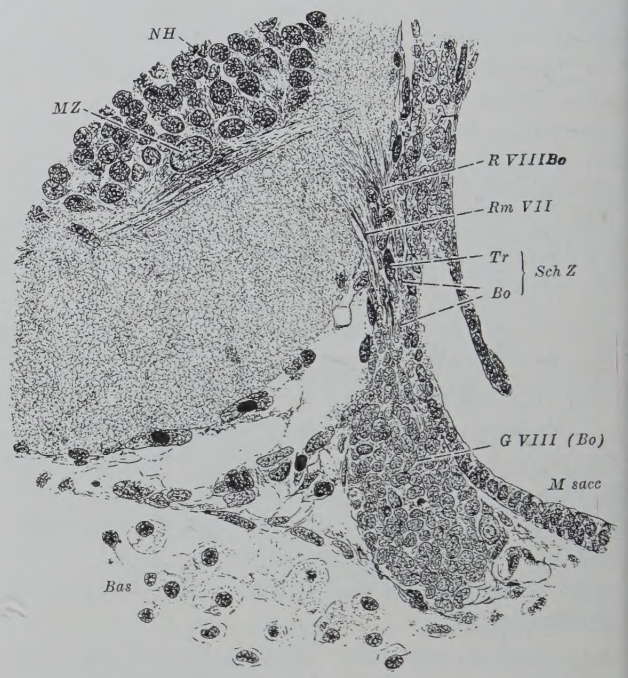


Abb. 3. Ähnliches Labyrinth wie Abbildung 2. Schnitt durch xenoplastisches Labyrinthganglion (*G VIII Bo*) mit Labyrinthnerv (*R VIII Bo*). Dieser strahlt in den Bereich der Mauthnerschen Riesenzelle (*MZ*) des Tritonnachhirns (*NH*) ein. *Bas* Basalplatte; *Msacc* Macula Sacculi. *RVII* N. facialis. *Tr-Bo Schz* Schwannsche Scheidenzellen von *Triton* und *Bombinator*.

Nach G. Andres, Z. vergl. Physiol. *32*, Abb. 2 (1950).

Nach dieser Entwicklung ist zu erwarten, dass die fremden Labyrinthe auch sinnesphysiologisch normal mitarbeiten. Diese Erwartung hat sich erfüllt. Andres[1] hat 30 Tritonlarven mit einseitigem und 8 Larven mit doppelseitigen Bombinatorlabyrinthen bis zu Larven mit funktionierenden Vorderbeinen aufziehen können. Wir wollen hier überwiegend die doppelseitig operierten Tiere betrachten. Sie arbeiten überhaupt nur mit Bombinatorlabyrinthen, die an der Stelle der Tritonlabyrinthe stehen.

Das entscheidende Stadium tritt bei zwei Wochen alten Larven ein. Intakte normale Tritonlarven fangen in diesem Alter an, kleine Würmchen und Daphnien zu schnappen. Sie brauchen dazu die Vorderbeine als Stützen und zum Vorwärtsschieben des Körpers. Der Körper nimmt dabei die typische horizontale Haltung des Tetrapoden ein, mit Rücken nach oben, Bauch nach unten. Ausserdem schwimmen diese Larven mit

[1] G. Andres, Z. vergl. Physiol. *32*, 1 (1950).

schlängelnden, regelmässigen Bewegungen ziemlich weite Strecken frei durchs Wasser. Bei künstlicher Rotation um die Längsachse zeigen sie eine kompensatorische Bewegung der Vorderbeine entgegen der Rotationsrichtung. Sie rührt von Lagereizen der Utriculus-Otolithe der Labyrinthe her (Loewenstein[1]).

Die Vorderbeine gleichaltriger Bombinatorlarven sind noch in der Kiemenhöhle eingeschlossen und werden überhaupt noch nicht zur Fortbewegung gebraucht. Die Bewegung dieser Larven beruht ausschliesslich auf schlängelnder Bewegung des Körpers, der die verschiedensten Stellungen zur Horizontale und Vertikale einnehmen kann. Oft hängen die Larven mit der Ventralseite nach oben an der Wasseroberfläche.

Gegenüber normalen Larven zeigen labyrinthlose Tritonlarven schwere Bewegungsstörungen. Einseitig labyrinthlose Tiere kippen und rollen bei heftigen Bewegungen nach der labyrinthlosen Seite. Bei doppelseitig labyrinthlosen Tieren beschränken sich die Bewegungen auf ein unkoordiniertes Zappeln. Die statischen Reflexe der Vorderbeine fehlen vollkommen.

Mit diesen labyrinthlosen Larven kontrastieren die Tritonlarven mit einseitig oder beidseitig xenoplastischem Bombinatorlabyrinth in ausserordentlichem Mass. *Sie sind in allen ihren Bewegungen und in den statischen Reflexen normal.* Ihre Schwimmfähigkeit lässt sich in den guten Fällen nicht von derjenigen normaler Tritonlarven gleichen Stadiums unterscheiden.

Darnach müssen die physiologischen Leistungen der Labyrinthe bei *Triton* und *Bombinator* in diesen Stadien bis in Einzelheiten übereinstimmen. Die xenoplastischen Labyrinthnerven müssen die richtigen Nervenzentren im Nachhirn erreicht und dort die feinmorphologischen Verbindungen mit den Wirtsneuronen hergestellt haben. – Die im späteren Stadium eintretende Degeneration der xenoplastischen Labyrinthe wird auf Seite 295 kommentiert werden.

Stammesgeschichtlich ist noch folgendes hinzuzufügen: die heutigen Urodelen und Anuren haben sich seit dem Paläozoikum in zwei getrennten Reihen entwickelt. Diese Tatsache ist für die erwachsenen Formen paläontologisch beweisbar. Sie gilt wahrscheinlich auch für die Larvenformen. Trotz dieser uralten Trennung und obgleich die Bewegungsart der beiden Larventypen heute verschieden ist, können sich also die entwicklungsphysiologischen Faktorensysteme und die Funktionen der larvalen Labyrinthe gegenseitig vertreten. Die stammesgeschichtliche Auseinanderentwicklung der beiden Amphibienordnungen erfasst also nicht alle Teile der Organisation gleichmässig. Es gibt Anteile, «die in ihrem Wesen unverändert übernommen und weitergegeben werden» (Andres[2], Baltzer[3]).

*

[1] O. Loewenstein, Z. vergl. Physiol. *17*, 806 (1932).
[2] G. Andres, Z. vergl. Physiol. *32*, 1 (1950).
[3] F. Baltzer, Verh. Schweiz. naturf. Ges., Versammlung in Sitten *1942*, 59.

Als zweite experimentell zu untersuchende Frage war oben formuliert worden: Wie verhält sich die xenoplastische Entwicklung von Organen, die sich bei den reinen Arten so verschieden entwickeln und im fertigen Zustand so verschieden sind, dass für sie *keine oder nur eine zweifelhafte Homologie* besteht? Ein solches Beispiel bietet die Entwicklung der *larvalen Haftorgane*. Sie bestehen bei den Anurenlarven aus einfachen, flachen *Drüsenscheiben* mit einer inneren Schicht gewöhnlicher Epidermiszellen (*EZ*) und einer äusseren Schicht dichtgedrängter hochzylindrischer Drüsenzellen mit klebrigem Sekret (*DZ*). Ihr Bau ist aus Abbildung 9 ersichtlich. (Der in dieser Abbildung dargestellte Tritonkeim besitzt ein Bombinatorimplantat mit typischer Haftscheibe.)

Gegenüber den einfachen Haftscheiben haben die Larven von *Triton* und anderen Urodelen lange, steife Haftschläuche mit klebrigem Ende («Haftfäden», Abb. 5*b Hfd* und 5*c*). Ihre Wand wird auch hier aus den bei den Amphibien vorhandenen Epidermisschichten gebildet. Wie bei *Bombinator* werden die Sekretzellen nur von der äusseren Schicht geliefert. Das Innere des Schlauches wird von einem lockeren Gewebe mesektodermaler Herkunft ausgefüllt. Dieses scheidet unter der Epidermis und von dieser induziert, eine Stützmembran (Abb. 5*c*, *Stm*) aus, die dem Schlauch seine Festigkeit gibt. Lage, Form und Bau des Haftfadens sind aus Abbildung 5*b* und *c* ersichtlich, die einer operierten Molchlarve mit intakter linker Wirtsseite zugehören.

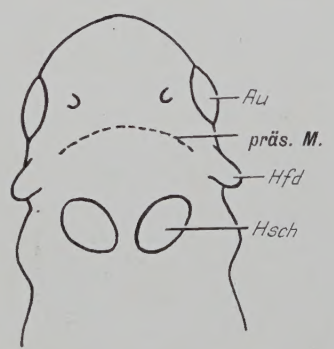


Abb. 4. Kombiniertes Bild zur Darstellung der gegenseitigen Lage der Bombinatorhaftscheibe und des Tritonhaftfadens. *Au* Auge, *Hfd* Haftfaden, *Hsch* Haftscheibe, *präs. M.* präsumptiver Mundbereich. Weitere Erklärung im Text.

Der Bildungsort der beiden Organe ist deutlich verschieden: Die Drüsenscheiben der Anurenlarven liegen median etwas hinter dem Mund, die Haftschläuche der Urodelenlarven seitlich zwischen Auge und vorderster Kieme. Diese topographische Verschiedenheit ist in Abbildung 4 wiedergegeben. Das Bild stellt eine junge Tritonlarve dar, in die ausser ihrer eigenen Haftfadenanlage (*Hfd*) auch die Haftscheiben (*Hsch*) einer gleichalten Bombinatorlarve hineingezeichnet sind.

Nach Entwicklung, Bildungsort und fertiger Form können die beiden Haftorgane nicht als homolog bezeichnet werden. Die entwicklungsphysiologische Analyse hat aber doch eine Reihe von Gemeinsamkeiten aufgedeckt. Die ersten xenoplastischen Haftscheiben in Tritonlarven erzielten Spemann und Schotté[1]. Sie transplantierten nicht determiniertes Ektoderm einer jungen Anurengastrula in die zukünftige Mundregion von Tritongastrulen und erhielten dort typische funktionierende Anurenhaftorgane. Das Experiment wurde von anderen Autoren wiederholt. Eine eingehende Analyse hat Chen[2] vorgenommen.

Aus seinen Versuchen ergibt sich folgendes:

1. Das *achsiale Mesektoderm* des Tritonhaftfadens kann xenoplastisch auch von *Bombinator* geliefert werden und wandert in *Triton* in gleicher Weise in den Schlauch ein, obgleich die Bombinatorlarve *keinen Schlauch* ausbildet und für den Bau ihrer Haftscheiben kein Mesektoderm verwendet. Ein Beispiel ist in Abbildung 5 *a–c* gegeben:

Es wurde der jungen Gastrula von *Bombinator* (ähnlich wie in Abbildung 1 *a*) ein Stück nicht determiniertes Ektoderm entnommen und in den vorderen, seitlichen Kopfbereich einer Tritonneurula eingepflanzt (Abb. 5 *a*). Dieses Bombinatormaterial entwickelt sich teilweise zu Epidermis (Abb. 5 *b*, *BoEp*) weiter, die sich über einen grösseren Teil des Kopfes ausbreitet; teilweise wandert es in das Innere des Kopfes ein und wird zu Mesektoderm (*BoMek*).

Damit entstehen für die Beteiligung der Epidermis und vor allem des Mesektoderms vom Wirt und Xenoplantat verschiedene Möglichkeiten. Im vorliegenden Fall besteht die Epidermis des Haftschlauches ganz aus Triton-, das achsiale Gewebe ganz aus Bombinatormaterial (Abb. 5 *b* und *c*). Ein achsial-chimärischer Haftfaden dieser Zusammensetzung wird normal lang und funktioniert normal als Haftorgan. Auch die Stützmembran (*Stm*), die eine spezifische Haftfadenbildung ist, wird (Abb. 5 *c*) vom fremden Mesektoderm gebildet. Überdies hängt die Haftfadenbildung primär von einer Induktion des (mandibularen) Mesektoderms ab. Dieses gehört hier zu *Bombinator*, hat also vor seiner Verwendung als achsiales Gewebe auch als Induktor gedient.

2. In anderen, operativ ähnlichen Fällen hat auch die Haftfaden*epidermis* teilweise xenoplastische Herkunft. Ihre Zusammensetzung kann periklinal gemischt sein, wobei *Bombinator* einen Teil der äusseren Epidermisschicht beisteuert, die innere Schicht aber ganz *Triton* zugehört. Solche Haftfäden können (in seltenen Fällen) auch normale Länge bekommen. Oder die Mischung kann sektorial sein, indem ein Sektor in ganzer Wanddicke aus Bombinatorzellen besteht. Solche Haftfäden bleiben auf einem Stadium ähnlich Abbildung 4 (*Hfd*) stehen (Baltzer und Chen[1]). Niemals hat Bombinatorepidermis für sich allein mit Tritonmesektoderm Haftfadenanlagen ausgebildet. Das Artbegrenzte der Tritonhaftfadenbildung liegt also in der Tritonepidermis, während das Tritonmesektoderm durch Bombinatormesektoderm vertreten werden

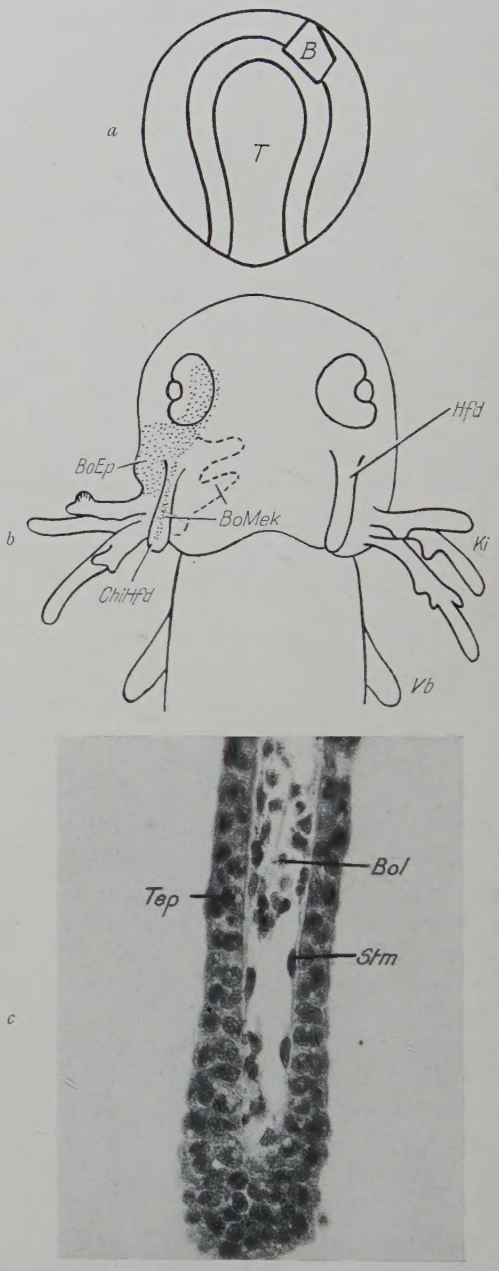


Abb. 5. Experiment von Chen zur Herstellung chimärischer Haftfäden. (Nach Baltzer und Chen, unveröffentlicht.)

a Implantation von nichtdeterminiertem Bauchektoderm *B* einer Bombinatorgastrula in den präsumptiven Haftfadenbereich einer Tritonneurula *T*. – *b* Larve nach 7 Tagen. Ventralansicht (dazu die dorsal gelegenen Augen). Rechts der normale Haftfaden *Hfd*, links chimärischer Haftfaden *Chi Hfd*. *BoEp* Bombinatorepidermis, *BoMek* Bombinatormesektoderm, *Ki* Kiemen, *Vb* Vorderbeinanlage. – *c* Längsschnitt dieses chimärischen Haftfadens. *BoJ* Bombinatormesektoderm, *Stm* Stützmembran, *Tep* Tritonepidermis.

[1] H. Spemann und O. Schotté, Naturwissenschaften *20*, 463 (1932).

[2] P. S. Chen, Roux'Arch. *145*, 462 (1952).

[1] F. Baltzer und P. S. Chen, Exper. *7*, 140 (1951). – Ausserdem unveröffentlichte Versuche von P. S. Chen und F. Baltzer.

kann. Wir können nach diesem Resultat nicht von einer wirklichen Homologie, wohl aber von äquivalenten Eigenschaften im Mesektoderm sprechen, obgleich dieses Gewebe an den Haftorganen von Bombinator normalerweise gar nicht beteiligt ist.

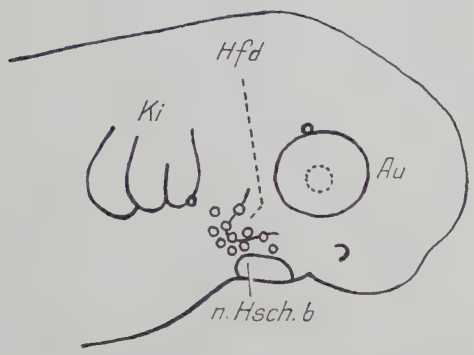


Abb. 6. Entwicklung von xenoplastischen Haftscheiben am «Haftfadenort» in *Triton*. Keim in Seitenansicht. Der Bereich *n.Hsch.b.* gibt, auf den Tritonkeim übertragen, den Bezirk an, in dem sich bei *Bombinator* die normalen Haftscheiben befinden würden. Die kleinen Kreise geben die Mittelpunkte der einzelnen Haftscheiben aus 13 Experimenten an. *Au* Auge, *Hfd* Bereich des Haftfadens, *Ki* Kiemenanlage. – Nach *P. S.* Chen und *F.* Baltzer, Rev. suisse Zool. *58*, Abb. 9 (1951).

3. Die beiden Haftorgane entstehen in der normalen Entwicklung, wie Abbildung 4 darlegte, an verschiedenen, wenn auch benachbarten Orten. Experimentell aber können die Haftscheiben auch am Haftfadenort hervorgerufen werden. In Abbildung 6 ist eine grössere Zahl solcher Experimente nach Chen und Baltzer[1] zusammengestellt. Die Operation ist dieselbe wie in Abb. 5 *a*, nur war das Bombinatorimplantat auf die obere Kopf*seite* beschränkt und reichte in der weiteren Entwicklung nicht bis in die ventrale Kopfregion. Dann entsteht die Haftscheibe hart am ventralen Implantatrand und liegt *im Haftfadenbereich*. Jeder Kreis in Abbildung 6 bedeutet ein Experiment und eine Haftscheibe. In diesem Experiment ist also eine *Homodynamie der Bildungsorte* vorhanden. Die Erklärung wird unter Punkt 4 gegeben.

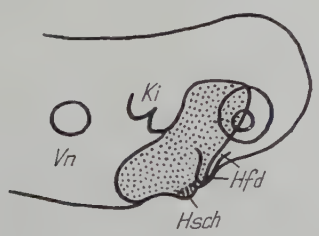


Abb. 7. Implantation vom nichtdeterminierten Ektoderm einer jungen Bombinatorgastrula in die seitliche Kopfregion einer Tritonneurula. Keim 4 Tage nach Operation. Es hat sich ein grosser Bereich xenoplastischer Bombinatorepidermis (punktiert) gebildet, dessen unterer Rand eine Haftscheibe *Hsch* entwickelt hat und der dicht daneben an einer Haftfadenanlage *Hfd* teilnimmt. *Ki* Kiemenanlage, *Vn* Vorniere.
Nach F. Baltzer und P. S. Chen, Exper. *7*, Abb. 2 (1951).

[1] P. S. Chen und F. Baltzer, Rev. suisse Zool. *58*, Fig. 9 (1951).

Eine besondere Gruppe bilden die Beispiele, in denen beiderlei Haftorgane auf der gleichen Kopfseite *dicht nebeneinander* vorkommen. In Abbildung 7 ist ein jüngeres Stadium dieser Art wiedergegeben, wo Haftfaden (mit zum Teil chimärischer Epidermis) und Haftscheibe dicht hintereinanderliegen. Dass dies möglich ist, spricht gegen eine vollständige Homologie, ist aber mit partieller Äquivalenz vereinbar.

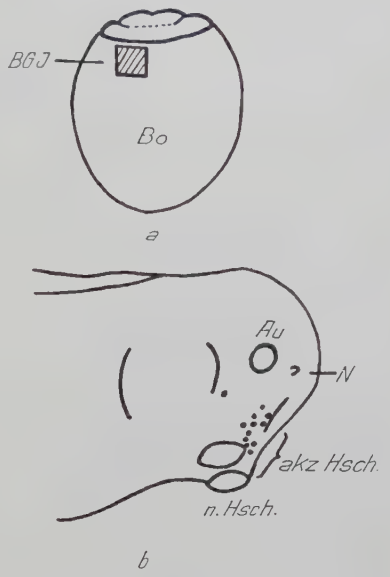


Abb. 8 *a*. Homoplastische Einpflanzung von nichtdeterminiertem Ektoderm einer jungen Bombinatorgastrula *BGJ* (schraffiert) in den vorderen Kopfbereich einer Bombinatorneurula *Bo*.
b. Entwicklung verspäteter akzessorischer Haftscheiben (*akz. Hsch*, verkleinert als Punkte dargestellt) über dem Bereich des mandibularen Mesektoderms. (Vgl. Abb. 9). *Au* Auge, *n.Hsch* normale Haftscheiben, *N* Nasengrube. Nach P. S. Chen, Roux' Arch. *145*, Fig. 24 (1952).

4. Mit diesem Ergebnis kommen wir weiter zur Frage des Induktionsmechanismus. Haftscheiben und Haftfäden werden in der normalen Entwicklung in verschiedenen frühen Larvenstadien sichtbar und werden von verschiedenen Induktoren induziert. Die Induktion der Haftscheiben geschieht in der normalen Entwicklung schon während der Gastrulation durch das Entoderm des Kopfdarmes (Yamada[1], Chen[2]), diejenige der Haftfäden erst nach Schluss des Neuralrohrs durch das mandibulare Mesektoderm, das wir schon als Lieferant des axialen Haftfadengewebes kennengelernt haben. *Die normalen Induktoren sind also nicht homodynam.* Mit dieser Verschiedenheit des Induktors hängt auch diejenige des Bildungsortes der beiden Haftorgane zusammen. Das Kopfentoderm, das die Haftscheibenbildung induziert, liegt weiter hinten und weiter ventral, das mandibulare Mesektoderm, der Induktor des Haftfadens stärker seitlich und weiter vorn, nahe dem Mund.

[1] T. Yamada, J. Facult. Sci. Imp. Univ. Tokyo *5*/H. 1, 133 (1938).
[2] P. S. Chen und F. Baltzer, Rev. suisse Zool. *58*, 522 (1951).

Im Experiment aber können die Haftscheiben auch vom Haftfaden-Induktor induziert werden und entwickeln sich dann entsprechend der Lage dieses Induktors näher am Mund und stärker seitlich. Dies gilt für den homoplastischen Fall, das heisst für *Bombinator* selbst, wenn noch nicht determiniertes Ektoderm der jungen Bombinatorgastrula in eine Bombinatorneurula gepflanzt wird (Operation in Abbildung 8 *a*). Dann entsteht vor den ventralen, normal induzierten Haftscheiben eine vom mandibularen Mesektoderm induzierte akzessorische Haftscheibe. In Abbildung 8 *b* ist dies für 12 Experimente zusammengefasst. Jeder Kreis bedeutet ein Experiment und eine akzessorische Haftscheibe.

Abb. 9. Gleiches Experiment wie in Abb. 8 *a*; jedoch Bombinator-Gastrulaektoderm in Tritonneurula. Larve 4 Tage nach Operation fixiert. Längsschnitt. Die Grenzen des Bombinatorimplantats sind mit Pfeilen angegeben. Die akzessorische Haftscheibe *Hsch* ist von Tritonmesektoderm *TMK* unterlagert. *EZ* innere Epidermisschicht, *DZ* Sekretzellenschicht der Haftscheibe. Nach P. S. Chen, Roux' Arch. *145*, Abb. 16 (1952).

Das gleiche gilt auch für den xenoplastischen Fall, wenn das nicht determinierte Bombinatorektoderm in die Kopfseite einer Tritonneurula eingepflanzt wird. Dann wird es vom mandibularen Tritonmesektoderm, das heisst dem legitimen Haftfadeninduktor, unterlagert, der nun in diesem Fall in der Bombinatorepidermis eine Haftscheibe induziert. Ein Beispiel ist in Abbildung 9 wiedergegeben. Innen an der Haftscheibe liegt Tritonmesektoderm. Es kommt, wie schon lange bekannt ist, von der dorsalen Neuralleiste her. Seine Ausbreitung im jungen Embryo ist für *Bombinator* und *Triton* gleich und in Abbildung 10 abgebildet. Man kann das wandernde Material leicht verfolgen, wenn man das betreffende Neuralwulststück in der Neurula vor der Auswanderung durch ein gleichwertiges, vitalblaugefärbtes Wulststück ersetzt hat (Abb. 10 *a*).

Die normale frühe Induktion der Haftscheibe kann also durch einen späteren, andersartigen Induktor ersetzt werden. Diese *Substituierbarkeit* der Induktionen bildet ein schönes Beispiel von entwicklungsphysiologischer Plastizität und kann hierin für unsere

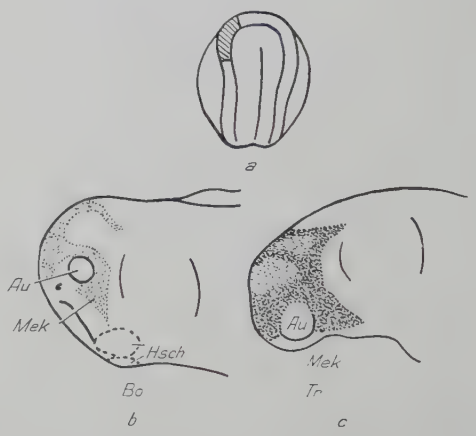


Abb. 10. *a* Orthotope Einpflanzung eines vitalblaugefärbten arteigenen Neuralwulststückes (schraffiert) bei *Bombinator* und bei *Triton*. – *b* Wanderung des gefärbten Materials *MeK* in Bombinator. 2 Tage nach der Operation. *Hsch* normale Haftscheiben, *Au* Auge. – *c* Entsprechende Wanderung in *Triton* vor Sichtbarwerden der Haftfadenanlage, zwei Tage nach Operation. Nach P. S. Chen, Roux' Arch. *145*, Abb. 33 und 23 *b* (1952).

Vorstellung von stammesgeschichtlichen Möglichkeiten von Bedeutung sein. Denken wir uns *hypothetisch* die Bildung von Haftfäden als stammesgeschichtlich neue Erwerbung gegenüber einem Larventypus mit Haftscheiben, so konnte das wesentlich Neue auf eine Potenzänderung der Epidermis beschränkt sein; die übrigen Potenzen (das heisst diejenigen des mesektodermalen Induktor- und Baumaterials) standen schon zur Verfügung.

*

Als dritte Möglichkeit bezeichneten wir die Entwicklung xenoplastischen Materials zu Organen, die *nur im einen Partner vorhanden* sind. Hierher gehören die im Mund der Anuren sich ausbildenden Hornplatten, die als Raspelorgane zur Nahrungsaufnahme dienen. Sie können, wie das schon genannte Experiment von Spemann und Schotté[1] gezeigt hat, auch vom Tritonkopf induziert werden, wenn dieser ein Anurentransplantat in der Mundregion besitzt.

Ein zweites Beispiel bilden die Rostralknorpel des Viszeralskeletts, die bei den Anurenlarven den Hornplatten als Stütze dienen und bei den Urodelenlarven kein Homologon haben. Das Gegenstück bildet die Bezahnung und die Entwicklung von Zahnknochen, die bei Urodelenlarven ausgebildet werden, den Anurenlarven aber fehlen. Sie entwickeln sich in dieser Gruppe erst mit der Metamorphose.

[1] H. Spemann und O. Schotté, Naturwissenschaften *20*, 463 (1932).

Das *Viszeralskelett* des Kopfes eignet sich für xenoplastische Versuche besonders gut, weil sich ein Teil der Viszeralknorpel schon in den jungen Urodelen- und Anurenlarven verschieden ausbildet. Diese xenoplastische Entwicklung und ebenso diejenige der Zähne ist von Wagner[1] eingehender untersucht worden, dessen Ergebnissen das folgende entnommen ist.

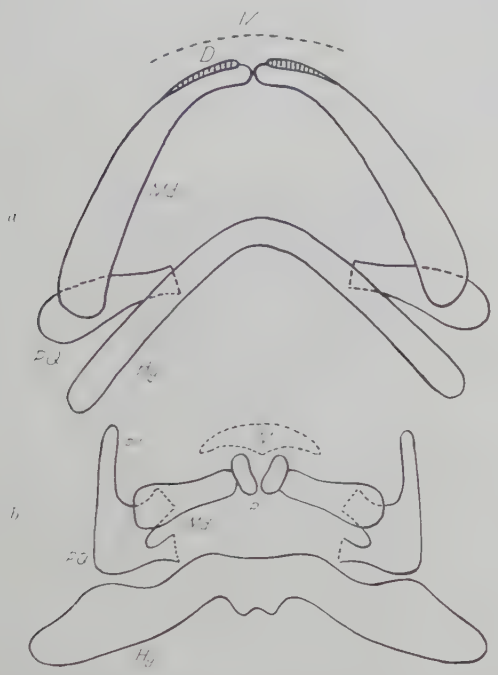


Abb. 11. Larvale Skelette (vordere Viszeralbögen) der Unterkieferregion. Ansicht von ventral. Nach G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, Abb. 4, vereinfacht (1949).

a Bei *Triton*. – *b* Bei *Bombinator*. *D* Dentale, nur bei Urodelen vorhanden, *Hy* Hyale, *M* ungefähre Lage des (späteren) Mundes, *Md* Mandibulare, *PQ* Palatoquadrat, *pm Processus muscularis* des *PQ*, *R* Infrarostrale, nur bei Anurenlarven vorhanden.

In Abbildung 11*a* und *b* sind, mit Beschränkung auf die Elemente des Unterkiefers, einige wichtige Unterschiede dieses Skeletts für *Triton* und *Bombinator* abgebildet. Die Mandibularknorpel (Abb. 11*a*, *Md*) sind bei *Triton* lang und säbelförmig. Ihnen liegt nach vorn ein zahntragender Hautknochen an: das Dentale (*D*). Bei der gleichaltrigen Bombinatorlarve ist das Mandibulare kurz und plump; Hautknochen gibt es nicht. Dagegen schliesst sich nach vorn an das Mandibulare ein besonderes Knorpelstück an, der untere Lippenknorpel (Infrarostrale, Abb.11*b*, *R*). Es hat, wie aus den beiden Bildern hervorgeht, die gleiche Lage wie das Dentale. *Alle* diese Elemente, die Knorpel sowohl wie die Hautknochen, sind mesektodermalen Ursprungs. Die Zähne dagegen sind gemischter Herkunft: Das Schmelzorgan gehört der Epidermis, die Dentinpapille wiederum dem Mesektoderm an.

Das von Wagner ausgeführte Experiment ist in Abbildung 12 wiedergegeben. Es wurde im Kopfbereich der Tritonneurula derjenige Teil des Neuralwulstes durch ein entsprechendes Stück des Bombinatorwulstes ersetzt, aus dem das Viszeralskelett und bei *Triton* auch das zahnbildende Mesektoderm und die Knochen selbst hervorgehen (vgl. Hörstadius und Sellmann[1]). Dann sind chimärische Skelette und eventuell chimärische Zähne zu erwarten, die zum Teil aus Triton-, zum Teil aus Bombinatormaterial bestehen.

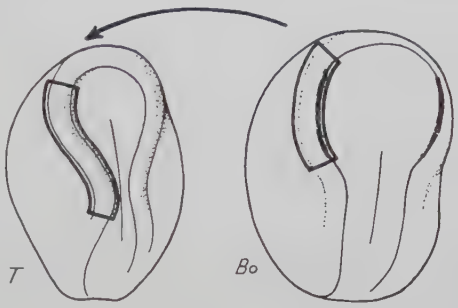


Abb. 12. Experiment G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, Abb. 1 (1949). Ortsgleiche Verpflanzung präsumtiven Viszeralmaterials (Neuralwulst) aus einer jüngeren Bombinatorneurula *Bo* in eine ältere Tritonneurula zur Erzeugung xenoplastischer viszeraler Skelettbögen.

Es seien hier nicht die einzelnen Etappen dieser Entwicklung, sondern nur die Endergebnisse und auch nur die Elemente der Unterkieferregion berücksichtigt. Dabei ist auch hier, wie bei den Haftorganen, die Frage zu stellen, in welchem Grade sich artbegrenzte und allgemeine Gestaltungsfaktoren kombinieren.

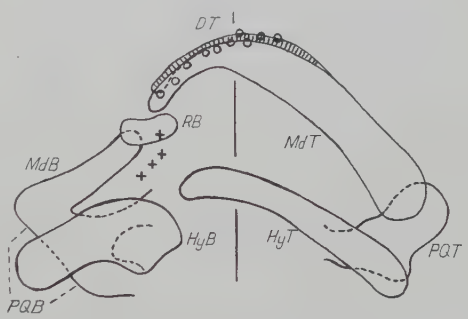


Abb. 13. Unterkieferregion einer Tritonlarve mit Bombinatorskelett auf der linken Seite in Ventralansicht. Bombinatoranteile sind mit *B*, Tritonanteile mit *T* bezeichnet. Übrige Bezeichnungen wie in Abbildung 11. Kleine Kreise bedeuten normale Tritonzähne; Kreuze sind chimärische Zähne. Die Vertikale bezeichnet die Sagitalebene. Die Tritonbögen haben auf die Transplantatseite übergegriffen. Nach G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, Abb. 6 (1949).

1. Wenn ein grosses Stück Neuralwulst verpflanzt wird, entstehen Skelette, die auf der Operationsseite eine nahezu vollständige Bombinatorskeletthälfte haben mit Mandibulare, Infrarostrale, Palatoquadrat und Hyale (Abb.13). Dabei liegt das Rostrale auch im Tritonkopf an der richtigen Stelle am weitesten vorn.

[1] G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, 519 (1949).

[1] S. Hörstadius und S. Sellmann, Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis *4*, 13, 8 (1946). – S. Hörstadius, *The Neural Crest* (Oxford University Press, London 1950).

Das Palatoquadrat kann weitgehend die typische vierarmige Form haben, die für *Bombinator* charakteristisch ist. Dies spricht für arteigene Formbildung. Da aber einige dieser Fortsätze embryonal auch bei *Triton* angelegt werden, könnten auch Wirtsfaktoren mitspielen (Raven[1]).

Dieses Element ist auch für die Beziehung zwischen Skelett und Muskulatur interessant. An den vorderen Knorpelfortsatz, der nur bei *Bombinator* vorhanden ist, setzt ein Muskelstrang an. Er ist mit gleichem Ansatz auch in der Chimäre vorhanden, gehört jedoch hier zur Tritonmuskulatur. Der entscheidende Faktor für den Muskelansatz liegt also beim Skelett.

2. Bei Verpflanzung kleinerer Neuralwulststücke entstehen Viszeralelemente, die in sich selbst chimärisch sind. Die Bereiche verschiedener Herkunft schliessen sich zu einheitlichen Knorpelspangen zusammen. Interessant ist dabei ein besonderer Fall: Es kommt bisweilen ein solcher eingesprengter Bereich von Tritonzellen zwischen das Bombinatormandibulare und das Rostrale zu liegen. Dann schloss sich in den bisherigen Fällen das Tritonmaterial an das Mandibulare an, das heisst an dasjenige Element, das auch in der Tritonorganisation vertreten ist, und nicht an das Tritonfremde Rostrale (Abb. 14, *Tz*).

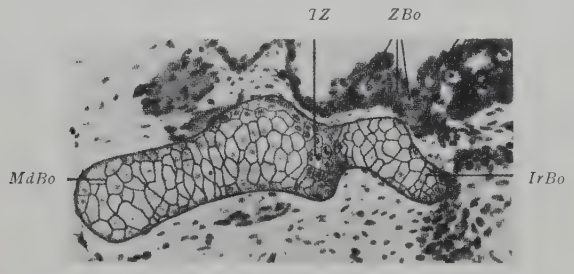


Abb. 14. Infrarostrale und chimärischer linker Mandibularbogen nach Operation wie Abbildung 11. Der Schnitt zeigt (undeutlich) auch quergeschnittene chimärische Zahnanlagen *ZBo*, vgl. Abbildung 15. *MdBo* grosser Bombinatoranteil, *Tz* kleiner Tritonanteil des Mandibulare, *IrBo* Infrarostrale. Nach G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, Abb. 16 (1949).

3. Eine bemerkenswerte Zusammenarbeit von Wirt und Implantat finden wir schliesslich auch bei der Zahnbildung. Die Bombinatorlarve ist, wie oben schon erwähnt wurde, zahnlos. Dies hängt zweifellos damit zusammen, dass ein Zahnknochenmaterial bei den Anurenlarven überhaupt noch nicht vorhanden ist und dass Hornplatten als neues Kauorgan ausgebildet wurden. Bei der Tritonlarve dagegen hat schon die Larve Zahnknochen und Zähne, die sich aus einem kegelförmigen epidermalen Schmelzorgan und einer mesektodermalen Dentinpapille entwickeln.

Bei den Chimären entstehen chimärische Zähne, zu denen die Tritonepidermis das Schmelzorgan, das Bombinatormesektoderm aber die Dentinpapille beisteuern (Abb. 15). Eine dünne Schicht von Dentin scheint gebildet zu werden, ob mehr, konnte nicht entschieden werden, da ältere Zahnanlagen noch nicht zur Verfügung stehen. Diese chimärischen Zähne sind zwar an den Epidermisbereich von *Triton*, nicht aber an dessen Knochenbereich gebunden; sie kommen auch im Knorpelbereich des Bombinatoranteils vor (Abb. 13 (+). Die Chimären beweisen also, dass bei der Zahnbildung die beiden beteiligten Gewebe entwicklungsphysiologisch eine verschiedene Spezifität haben: Die Epidermis ist der art- oder richtiger ordnungsspezifische, das Mesektoderm der allgemeine Anteil.

Abb. 15. Chimärische Zahnanlage in Tritonlarve mit Bombinatorimplantat. Längsschnitt. *PBo* Bombinator-Dentinpapille, *S* Prädentin (?), *ST* Tritonschmelzorgan. Nach G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, Abb. 18*b* (1949).

Da der Larventypus der Anuren sicher der sekundäre ist gegenüber demjenigen der Urodelen, können wir die Zahnlosigkeit der Bombinatorlarve als «Retardation» im Sinne de Beers[1] auffassen. Konkret stammesgeschichtlich ausgedrückt: Die Realisierung der Potenz, Zähne zu bilden, die stammesgeschichtlich schon in der Larve vorhanden war, wurde bei den Anuren in Zusammenhang mit der Ausbildung eines neuen larvalen Kauapparates (der Hornplatten) zeitlich hinausgeschoben. Sie wird ontogenetisch erst realisiert, wenn dieser Kauapparat verschwindet. Diese Retardation betrifft aber, wie das Experiment zeigt, *nur die Epidermis und nicht das Mesektoderm.*

Fassen wir kurz das Wesentliche über diese Skelettchimären zusammen. Sie zeigen gegenüber den Verhältnissen bei Haftorganen wiederum ein etwas anderes Bild, vor allem eine grössere Artbegrenztheit im reagierenden Material. Auf der anderen Seite sind die topogenetischen und induktiven Vorgänge in hohem Mass homodynam: die Bildung des Viszeralskeletts setzt umfangreiche Wanderungen des Mesektoderms, das diese Skelettelemente liefert, voraus. Bei der

[1] Chr. P. Raven, Diskussionsbemerkung zu Baltzer, Rev. suisse Zool. *57*, Supplement, S. 112 (1950).

[1] G.R. de Beer, *Embryos and Ancestors* (Clarendon Press, Oxford 1951).

Lenkung dieser Wanderung spielen, wie Hörstadius und Sellmann[1] eingehend gezeigt haben, die Viszeraltaschen des Vorderdarms eine wichtige Rolle. Das Mesektoderm wandert in die Räume zwischen diesen Taschen ein.

Im Tritonkopf führt das xenoplastische Bombinatormaterial ohne Schwierigkeit die gleichen Wanderungen aus und landet hier zwischen den Viszeraltaschen des Tritondarmes. Damit kommt es auch zur richtigen Anlage der getrennten Bogen. Oder es kommt, wenn sich xenoplastisches und wirtseigenes Neuralleistenmaterial schon früh mischen, zu mosaikmässig harmonisch zusammengesetzten Elementen.

Dann setzt die Formbildung der einzelnen Bogenstücke ein, deren Homologisierung von *Triton* zu *Bombinator* bei Mandibulare, Palatoquadrat und Hyoid keine Schwierigkeiten bietet. Sie geschieht arteigen oder überwiegend arteigen. Dies ist besonders beim Palatoquadrat deutlich. Wenn es aus Bombinatormaterial besteht, tendiert es auch zu der für *Bombinator* charakteristischen vierarmigen Form.

Eine Analyse unter genauerer Berücksichtigung der Formdifferenzen könnte hier wohl weitere Aufschlüsse geben. Dass die Gestaltung des Knorpelskeletts in hohem Grade artbegrenzt ist («intrinsic growth pattern», Weiss[2]), haben Fell[3] sowie Weiss und Amprino[4] für Gewebskulturen gezeigt. Es wäre die Frage, ob in einem artfremden Amphibienkopf die Beeinflussung nicht doch grösser sein kann als in der Gewebskultur.

Problematischer sind die Rostralknorpel (Lippenknorpel), wobei ich mich auf die Betrachtung der im Unterkieferbereich liegenden Infrarostralia beschränken möchte. Nach der gemeinsamen mesektodermalen Herkunft und nach der entsprechenden Lage wäre das Infrarostrale der Anuren mit dem Dentale der Urodelen zu homologisieren. Ersteres ist aber Knorpelgewebe, letzteres Knochen. Die Chimären stützen eine Homologisierung in topographischer Hinsicht. Das Bombinatorrostrale hat im Tritonkopf immer die gleiche Lage wie das Dentale. Die topogenetischen Bedingungen können also für das Bombinatorelement von *Triton* übernommen werden. Das Infrarostrale gliedert sich bei seiner normalen Entwicklung in *Bombinator* vom Mandibulare ab und tut dies auch im Tritonkopf, der selbst ein Rostrale gar nicht besitzt und auch stammesgeschichtlich gar nie besessen hat. Irgendwie muss dabei der fremde Wirt mitbeteiligt sein. Sonst wäre nicht zu verstehen, dass die Abtrennung immer am richtigen «rostralen Ort» vor sich geht (vgl. Wagner[5] Abbildung 13 und 14). Überdies kommen auch hier (wie bei den Haftorganen) beide Elemente unter experimentellen Bedingungen «am homologen Ort» zusammen vor, wenn Mesektoderm beider Partner am rostral-dentalen Ort liegt (Wagner[1], Abbildung 14, *b*, *c*, *e*). Andere Charaktere sind streng artbegrenzt: So die besondere Form, ausserdem aber auch, was schwerer wiegt, der Gewebecharakter. Immer ist das Rostrale knorpelig, das Dentale knöchern, und es kommt nicht vor, dass das Bombinatormesektoderm ein knöchernes Element liefert.

Zusammenfassung

Im folgenden ist eine Zusammenstellung sämtlicher Resultate gegeben, wobei folgende Fragen in den Vordergrund gestellt werden:

In welchem Mass verhalten sich die Induktionssysteme bei den beiden im Experiment verwendeten Arten homodynam, in welchem Mass artbegrenzt?

In welchem Umfang entwickeln sich die organaufbauenden Gewebe homolog? In welchem Mass besteht eine Äquivalenz, insbesondere auch bei Organen, die sich in den beiden Arten verschieden entwickeln oder überhaupt nur bei der einen Form vorhanden sind?

In welchem Mass verteilen sich Äquivalenz und Artbegrenztheit auf Epidermis und Mesektoderm? Nach Holtfreter[2] verhält sich die Epidermis bei xenoplastischer Entwicklung allgemein stärker artbegrenzt, das Mesektoderm stärker homodynam und homolog. Unsere Ergebnisse bestätigen grösstenteils diese Ansicht.

In welchem Grade endlich können wir die gefundenen Homodynamien und Homologien mit der stammesgeschichtlichen Entwicklung der Amphibien in Beziehung bringen? Wir nehmen dabei an, dass die Urodelen der Stammgruppe, den Stegozephalen, näherstehen und dass die Anuren die stammesgeschichtlich sekundäre Gruppe bilden[3].

I. Die *Induktionssysteme* arbeiten in dem betrachteten xenoplastischen Material *immer homodynam*, und zwar nicht nur bei den primären Induktionen der ersten Organanlagen, sondern auch bei späteren Induktionsvorgängen, die der primären Induktion nachgeordnet sind[4]. Ein gutes Beispiel hiefür bildete die Induktion der knorpeligen Labyrinthkapsel[5].

[1] S. Hörstadius und S. Sellmann, Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis *4*, 13, 8 (1946).

[2] P. Weiss, Diskussionsbeitrag zu Baltzer, Rev. suisse Zool. *57*, Supplement, 113 (1950).

[3] H. J. Fell, Philos. Trans. Roy. Soc. London [B] *229*, 407 (1939).

[4] P. Weiss und R. Amprino, Growth *4*, 3, 245 (1940).

[5] G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, 519 (1949).

[1] G. Wagner, Rev. suisse Zool. *56*, 519 (1949).

[2] J. Holtfreter, Roux'Arch. *133*, 541 (1935).

[3] Nach anderer Annahme gehen die beiden Amphibienordnungen überhaupt getrennt auf verschiedene Fischgruppen zurück.

[4] Vgl. die Schemata von Holtfreter, Roux' Arch. 138, 636 (1938), und J. Needham, *Biochemistry and Morphogenesis* (University Press, Cambridge 1950), Abb. 162.

[5] *Degeneration der xenoplastischen Organe.* Die Molch-Unken-Transplantate verfallen alle schon während der Larvenentwicklung der Degeneration, am frühesten die Epidermis, dann Neuralrohrstücke [H. Roth, Rev. suisse Zool. *56*, 291 (1949); *57*, 621 (1950)], etwas später – ungefähr vom 17. Tag an – die Labyrinthe, noch später die Pigmentzellen und Knorpel. Über die zeitliche Reihenfolge haben G. Andres und H. Roth, Rev. suisse Zool. *56*, 298 (1949)] Angaben gemacht. Einer eben erschienenen Mitteilung von N. Farinella-Ferruzza [Bollet. Zool. *17*, 113 (1950)] zufolge

Diese weitgehende Homodynamie der Induktionssysteme gilt auch für Organe, die *dem induzierenden Wirt teilweise artfremd sind oder ihm überhaupt fehlen.* Dies ist der Fall bei der Induktion der Haftorgane, der Zahnentwicklung, wahrscheinlich auch der viszeralen Rostralknorpel.

II. Als *reagierende Gewebe*, aus denen die Organe aufgebaut werden, kommen in den hier betrachteten Experimenten Epidermis und Mesektoderm in Betracht. Für die *mesektodermalen Anteile* ist xenoplastische Vertretbarkeit, also Homologie, die Regel, auch dann, wenn das xenoplastische Mesektoderm an einem Organ teilnimmt, das in der Spenderart *nicht* vorkommt. Beispiele sind die Haftfadenbildung mit achsialem Bombinatormesektoderm, die Zahnanlage mit Dentinpapille von Bombinatormesektoderm. In beiden Fällen handelt es sich um das Mesektoderm der stammesgeschichtlich abgeleiteten Art (*Bombinator*).

Die *epidermalen Anteile* verhalten sich deutlich stärker artgebunden. Beispiele folgen unter III.

III. Im einzelnen wurden folgende xenoplastische Organentwicklungen untersucht:

1. *Xenoplastische Bombinatorlabyrinthe* (Seite 287 ff.). Sie sind rein epidermaler Herkunft und entwickeln auch in *Triton* ihre Bombinatormerkmale. Andererseits ist ihre histologische und sinnesphysiologische Einordnung (Nervenbahnen zum Nachhirn und statische Funktion) in den artfremden und statisch abweichenden Wirt völlig eingepasst.

2. *Entwicklung der Haftorgane* (Seite 228 ff.). Die xenoplastische Bombinator*epidermis* bildet in *Triton* typische Haftscheiben mit reinen Bombinatormerkmalen. Sie kann an der für *Triton* charakteristischen Haftfadenbildung nur in beschränktem Mass teilnehmen.

Die beiden Haftorgane haben in der normalen Entwicklung verschiedene, wenn auch benachbarte *Bildungsorte*. Im Experiment kann die Haftscheibe auch am Haftfadenort entstehen. Dann ist ihr normaler Induktor durch den Haftfadeninduktor ersetzt.

3. Das *Viszeralskelett* (Seite 292 ff.) ist bei den Amphibien mesektodermalen Ursprungs (Neuralleistenmaterial). Im Vergleich zu den Leistungen bei der Haftfadenentwicklung scheinen die Entwicklungsvorgänge hier stärker art- bzw. ordnungsbegrenzt.

a) Die *segmentalen viszeralen Skelettbogen* können im Kopf von *Triton* xenoplastisch auch von Bombinatormesektoderm weitgehend normal gebildet werden. Ihre Bildung setzt ein kompliziert gestaffeltes, topographisch detailliertes, in beiden Arten homodynames Induktorensystem voraus.

b) Die *Form* der einzelnen Bogen ist bei einigen Elementen verschieden, so beim Palatoquadrat. Das Bombinatormesektoderm entwickelt im Tritonkopf überwiegend seine artbegrenzte, vierarmige Form. Es setzt sich also der stammesgeschichtlich jüngere Charakter durch.

c) Die *Muskulatur* des Wirtes setzt, soweit die Beobachtungen reichen, in wirtsfremder Weise an das fremde Skelett an. Das Skelett ist der hiefür entscheidende Faktor.

d) Abgrenzung und Bildungort der xenoplastischen *Rostralia*, die für *Triton* artfremd sind, werden wahrscheinlich teils vom Tritonkopf, teils von arteigenen Faktoren des Materials selbst bestimmt. Soweit der Tritonkopf massgebend ist, passt sich hier das stammesgeschichtlich jüngere Material dem älteren System an.

4. Die Ausbildung von *Zähnen* ist in den Larvenstadien auf *Triton* beschränkt. Ähnlich wie bei der Haftfadenentwicklung verhält sich der epidermale Anteil stark artgebunden; Zähne entstehen nur, wenn Tritonepidermis vorhanden ist. Dagegen ist der mesektodermale Anteil, wenigstens bei jüngeren Stadien der Zahnentwicklung, homodynam (ältere Stadien stehen bisher nicht zur Verfügung). Hier ordnet sich also das stammesgeschichtlich jüngere Mesektoderm der älteren Epidermis ein.

IV. *Rückblick.* Es besteht unter den Forschern weitgehende Übereinstimmung darüber, dass Homologien als stammesgeschichtliche Verwandtschaften erklärt werden müssen. Der vorliegende Aufsatz hatte die Aufgabe, das Wesen homologer Entwicklung und stammesgeschichtlicher Verwandtschaft auf Grund xenoplastischer Experimente von der entwicklungsphysiologischen Seite her zu analysieren und damit gleichzeitig einen Beitrag zu unserer allgemeinen Auffassung über stammesgeschichtliche Entwicklung zu liefern. Aus dieser Analyse ging hervor, dass in nicht wenigen Fällen *partiell äquivalente (homodyname oder homologe) Bildungen vorhanden sind, auch bei Organen, die morphologisch in ihrer Entwicklung kaum eine Homologie*

entwickelt sich Tritonschwanzgewebe auf *Discoglossus* bis über die Metamorphose. Allen Fällen ist gemeinsam, dass die Xenoplantate zuerst ihre morphologische und histologische Ausbildung vollenden und mindestens auch einen grossen Teil ihrer Funktionen übernehmen. Die Degeneration *setzt erst nachher ein.* Nach G. Andres [Z. vgl. Physiol. *32*, 25 (1950)] würde sie am ehesten mit der während der Ontogenese zunehmenden Spezifizierung von Proteinkomponenten, zum Teil aber auch mit banaleren Stoffwechseldifferenzen zusammenhängen. Eine solche Erklärung liegt in der Richtung der von Cotronei [Lit. bei H. Roth, Rev. suisse Zool. *56*, 291 (1949)] und seiner Schule gegebenen Auffassung.

So dringend die genauere Untersuchung der Degeneration ist, so stellt sich uns hier doch vor allem die Frage, ob dieser Zerfall die Auswertung der xenoplastischen Leistungen für das Homologieproblem beeinträchtigt, weil sich die Xenoplantate eben nicht von einer Generation zur nächsten erhalten. Eine solche Beeinträchtigung besteht nach unserer Auffassung nicht. Die hier durchgeführte Analyse betrifft die Frage, in welchem Grad sich ein Xenoplantat mit seiner Entwicklungsrichtung im Wirtsystem von einem anderen Typus *entwickeln und mit diesen zusammenarbeiten kann.* Die gefundenen Tatsachen haben solche Entwicklungsmöglichkeiten in weitem Umfang bewiesen. Sie haben gleichzeitig nähere Anhaltspunkte dafür gegeben, in welchem Grade auch bei weittragenden stammesgeschichtlichen Umwandlungen abgeänderte Organentwicklungen in eine unverändert gebliebene Gesamtorganisation eingebaut werden können.

erkennen lassen oder einem Partner der Chimäre überhaupt fehlen. Mit anderen Worten: Die Formvergleichung hat Grenzen, über die die entwicklungsphysiologische Methode hinausführt.

Die letztere ergab in der Embryonalentwicklung von «Ordnungschimären» ein bemerkenswertes Zusammenspiel art- oder ordnungsbegrenzter und gemeinsamer Teilvorgänge. Sie zeigte, dass auch bei divergenter Entwicklung ein Grundstock von Gemeinsamkeiten vorhanden ist[1], und dass eine unerwartete gegenseitige Substituierbarkeit des geweblichen Materials möglich ist. Auf die Stammesgeschichte zurückprojiziert bedeutet dies, dass bei evolutivem Geschehen eine grosse Plastizität und Kombinierbarkeit von Teilvorgängen angenommen werden kann. Dies vermindert bis zu einem gewissen Grad die Schwierigkeiten, denen wir bei der stammesgeschichtlichen Entstehung stark abweichender neuer Typen begegnen.

Summary

The present paper deals with xenoplastic transplantations between germs of *Triton* and *Bombinator;* transplant and host belong to different Amphibian orders. These transplants have developed into the following *larval* organs:—

(1) functional Bombinator-labyrinths in Triton-host (Andres 1949, 1950);
(2) suckers of *Bombinator* in Triton-host, chimeric Tritonbalancers in *Bombinator* and in *Triton* (Chen-Baltzer 1951, Chen 1952);
(3) chimeric teeth: enamel organ from *Triton*, dentine papilla from *Bombinator* (Wagner 1949);
(4) chimeric or pure visceral arches of *Bombinator* in *Triton* head (Wagner 1949).

The important result is the fact that the cell material of *Bombinator* participates in the formation of Triton-*specific* organs, which are not present in *Bombinator*. Moreover a similar combined development occurs in organs, which are, if at all, only partially homologous in the two Amphibian types. Such findings may contribute to an experimental analysis of the developmental background of homologies (Baltzer 1950). In this respect the experimental facts provide indications which the pure morphological comparison is not able to give: namely, in two points.

(*a*) It is well known that *inductions* are non-specific. Moreover, non-equivalent induction-processes may be substituted for one another between the two Amphibian groups (case of sucker induction in the *Bombinator* gastrula and the *Triton* neurula, Chen 1952).

(*b*) It is not surprising that the *cell material* and the *organ-primordia* can mutually replace each other in the development of homologous organs (Bombinator-labyrinths in *Triton* [Andres, l.c.], *Bombinator* neural cord in *Triton* and vice versa, Roth, 1950). However, it is unexpected that similar replacements can also occur in cases where no homology, or at best a partial one, exists (cases 2–4 enumerated above).

Ultimately these findings contribute to phylogenetic conceptions. Substitutions and replacements as described above suggest a very great plasticity in phylogenetic changes.

[1] Vgl. auch F. E. Lehmann, Vjschr. Naturf. Ges. Zürich *83*, 187 (1938), (Festschrift Karl Hescheler).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

The Diffuse X-Ray Reflections from Diamond

It has been known for some years that in addition to the usual X-ray diffraction spectra diamonds may give diffuse reflections of two types. One type is always observed, namely, that which is attributed to thermal diffuse scattering, but the other does not occur in all crystals and is qualitatively different from the thermal type. On a Laue photograph the thermal type of scattering gives rise to spots having diffuse boundaries, whereas the second type is associated with sharp extra spots. The sharp spots occur in positions on the photograph corresponding to the intersection with the reflecting sphere of spikes passing through each relp (reciprocal lattice point) and parallel to the edges of the unit cell. Certain rules have been established concerning their presence or absence[1].

From Laue photographs taken with various radiations we have studied (a) the occurrence of spikes for a number of relps, (b) the law of variation of the scattering density along any given spike, (c) the relative intensities of the various spikes, and (d) the absolute intensity of one spike for one crystal. Our results show that the scatter-

[1] C. V. Raman and P. Nilakantan, Proc. Ind. Acad. Sci. [A] *14*, 356 (1941). – K. Lonsdale, Proc. roy. Soc. [A] *179*, 315 (1942). – A. Guinier, Bull. Soc. franç. Min. *67*, 382 (1944). – H. Grenville Wells (Thesis, London 1951).

ing density along a spike in reciprocal space, $\mathfrak{D}$, depends on the structure amplitude of the relp F_{hkl} and the distance from the relp, R, according to the expression,

$$\mathfrak{D} \sim |F_{hkl}|^2 \, R^{-n}$$

where $n = 2{\cdot}2 \pm 0{\cdot}1$. The same value of n was obtained for all the spikes of all the relps investigated, namely, 111, 220, 311, and 331. The results concerning the occurrence and relative intensities of the spikes are contained in the following Table.

Indices of relp	Zone indices of spike			X-radiation used
	[100]	[010]	[001]	
111	87	87	87	Cu Kα
220	76	76	absent	Cu Kα
113	100	100	absent	Cu Kα
222	~75	~75	~75	Cu Kα
004	< 5	< 5	~30	Cu Kα monochr.
331	7	7	104	Cu Kα
224	72	72	30	Cu Kβ
115	present	present	absent	Mo Kα monochr.
333	absent	absent	absent	Mo Kα monochr.

The numbers given in the Table were obtained by dividing $\mathfrak{D}$ at unit distance from the corresponding relp by the $|F_{hkl}|^2$ values given by Brill *et al.*[1] The photographs were taken so that there appeared on the same film the spikes associated with different relps. In this way a comparison between the intensities of the spikes could readily be made. The spikes obtained only with Mo Kα radiation were too weak to express numerically. The accuracy of the Figures is about 10%.

It will be seen from the Table that a simple relation exists between the indices of the relps and $\mathfrak{D}/|F_{hkl}|^2$. Thus when h has a given value, no matter what the values of k and l may be, the value of $\mathfrak{D}/|F_{hkl}|^2$ for the spike [100] is the same. For instance, when h has the values 0, 1, 2, 3, and 4, these values are < 5, 100, 74, 5, and 30 respectively. The only significant departure from this statement occurs for the relp 111, but this may not be a true exception because the value of F_{111} given by Brill *et al.* is possibly too high. The symmetry of the crystal requires that similar statements can be made about the relations between indices k, l and the spikes parallel to [010] and [001].

The absolute measurements can only relate to a particular crystal since the spikes occur with varying strengths in different crystals. The crystal used in this work was nearly spherical, of diameter about 0·5 mm and showed strong spikes. The absolute measurement was made by comparing the spike with the thermal diffuse spot. Taking the known values for the elastic constants of diamond it is possible to calculate from the usual formulae the absolute intensity of the thermal diffuse scattering for any given line passing through any relp. A comparison of the spike with the diffuse spot then puts the spike intensity on an absolute scale. The diffuse beam corresponding to the spike parallel to [100] passing through the relp 113 was studied. At a distance of $a^*/10$ from the relp the ratio of the diffuse and incident beams was 7×10^{-7}.

The above information expresses in quantitative form what previous authors have largely given in qualitative form. The relation between the value of the index h and the intensity of the corresponding spike determines certain features of a stratification parallel to the cube faces. The inverse square law which we have found to be approximately valid would be expected to hold if this stratification is subject to random variations. Further work is in progress on the interpretation of these results.

One of us (J. Hoerni) acknowledges the award of a scholarship by the Swiss Commission for Post-doctoral Studies in Mathematics and Physics. We gratefully acknowledge the loan of a number of diamonds by Dr. H. Grenville Wells and by Mr. P. Grodzinski.

J. Hoerni and W. A. Wooster

Crystallographic Laboratory, Cavendish Laboratory, Cambridge, April 24, 1952.

Résumé

La diffraction des rayons X par certains diamants présente des réflexions anormales que nous avons étudiées quantitativement. Elles correspondent, dans l'espace réciproque, à l'intersection de la sphère d'Ewald par des zones de diffusion passant par les points du réseau réciproque du cristal, et sont dirigées selon les axes quaternaires. Les résultats obtenus fournissent une relation simple entre les intensités des diverses zones de réflexion diffuse.

[1] R. Brill, H. G. Grimm, C. Hermann, and C. Peters, Ann. Phys., Leipzig *34*, No. 5, 393 (1939).

Zur Kenntnis des Isonikotinsäurehydrazid-Cu-Komplexes

Metallionen und biologische Wirkung, 9. Mitteilung [1]

Das für die Chemotherapie wichtig gewordene Isonikotinsäurehydrazid bildet, wie bereits berichtet wurde[2], mit $Cu^{\cdot\cdot}$ einen Komplex, der in Gegenwart von SO_4'' als schwerlösliches Salz isoliert werden kann. Da, wie wir fanden, die Wirkung des Isonikotinsäurehydrazids auf Tbc-Kulturen im Kirchner-Milieu durch Zusatz von $Cu^{\cdot\cdot}$ bis auf das zehnfache gesteigert werden kann, und andererseits die Verhältnisse im isolierbaren Festkörper nicht für die Deutung der in der Lösung vorhandenen Komplexe verwertbar sind, war es von Interesse, die Reaktion zwischen Isonikotinsäurehydrazid und $Cu^{\cdot\cdot}$ in verdünnter wässriger Lösung näher zu charakterisieren.

Wir haben durch spektrophotometrische Absorptionsmessungen bei 760μ von Isonikotinsäurehydrazid-$CuSO_4$-Mischlösungen die Komplexbildung untersucht. Bei Variation des Konzentrationsverhältnisses, so dass

$$[Cu^{\cdot\cdot}] + [R\mathrm{H}] = 0{,}01 = \text{const},$$

zeigte es sich, dass ein Komplex gebildet wird, in dem 2 Mol Isonikotinsäurehydrazid auf 1 Mol $Cu^{\cdot\cdot}$ enthalten sind.

Die Frage, ob es sich hier um einen einfachen Ion-Dipolkomplex handelt oder ob Isonikotinsäurehydrazid in der tautomeren Form als Pseudosäure reagiert:

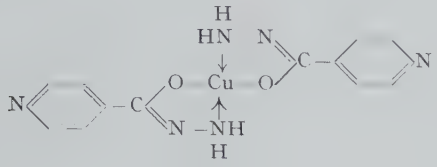
$$2\,R\mathrm{H} + Cu^{\cdot\cdot} = R_2Cu + 2\mathrm{H}^{\cdot}$$

konnte durch Ermittlung der die Reaktion begleitenden Änderung der $[\mathrm{H}^{\cdot}]$ entschieden werden. Die Messungen zeigen, dass $\mathrm{H}^{\cdot}$-Ionen frei werden, so dass ein Komplex von der Formel (I) in der Lösung anzunehmen ist.

[1] 8. Mitteilung: V. Kocher und E. Sorkin, Helv. chim. acta *35*, Fasc. 5 (1952).

[2] E. Sorkin, H. Roth und H. Erlenmeyer, Helv. chim. acta *35*, Fasc. 5 (1952).

Aus den Versuchen, die zur Ermittlung der Beständigkeitskonstanten dieses Komplexes bei pH 4 durchgeführt wurden, geht hervor, dass die Beständigkeit in der Grössenordnung der Beständigkeit des Oxin-Cu-Komplexes[1] entspricht.



(I)

Ausführliche Angaben über Messungen und Berechnungen erfolgen in einer späteren Mitteilung in den Helv. chim. Acta.

S. Fallab und H. Erlenmeyer

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel, 29. Juni 1952.

Summary

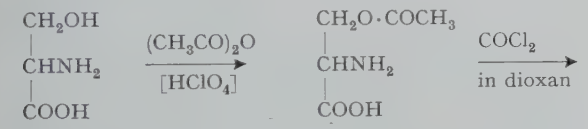
The complex formation between Isonicotinic acid hydrazide and Cu^{++} in aqueous solution has been investigated by a spectrophotometric method.

[1] S. D. Rubbo, A. Albert und M. I. Gibson, Brit. J. exp. Path. *31*, 425 (1950).

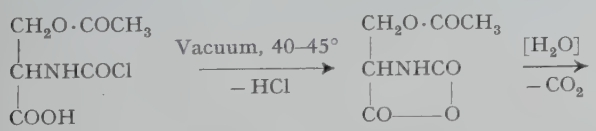
Synthesis of Poly-O-acetylserine and of Polyserine

In a previous publication we have reported on the preparation of the N-carboxy anhydrides of O-acetylserine and of O-carbobenzoxyserine[1], starting from O-acetyl-N-carbobenzyloxyserine, and from O,N-dicarbobenzyloxyserine respectively. With the aid of these compounds, polyacetylserine and polyserine are in principle accessible, but the fact that the polymerisation products obtained were of comparatively short chain length, and the interference of certain preparative difficulties, made it desirable to work out a different route for the synthesis of polyacetylserine and of polyserine.

The following scheme represents the steps involved in it:



(I) D,L-Serine (II) O-acetylserine



(III) O-acetyl-N-chloroformylserine (IV) O-acetyl-N-carboxyserine anhydride

(V) Poly-O-acetylserine (VI) Polyserine

[1] M. Frankel and M. Halman, J. Chem. Soc., London (in press).

The differential acetylation of the hydroxyl group of D,L-serine, leading to O-acetylserine, is possible according to the technique of Sakami and Toennies[1] under the influence of perchloric acid, making use of the fact that in acetylation with acetic acid anhydride in glacial acetic acid, the acetylation of α-amino groups is increasingly suppressed, while that of the hydroxyl group is promoted catalytically with increasing concentration of perchloric acid.

On suspending the finely powdered O-acetylserine (II) in dry dioxan and passing gaseous phosgene with stirring through the suspension at a temperature of 35–40°, the acetylserine dissolved within about two hours. Removal of excess phosgene and of solvent in vacuo and subsequent heating in vacuo at 40 to 45°, leads directly to O-acetyl-N-carboxyserine anhydride (IV), through loss of hydrogen chloride from the intermediate O-acetyl-N-chloroformylserine (III). A similar procedure has been used by several authors for the preparation of other N-carboxy anhydrides of α-amino acids ("Leuchs" anhydrides[2]). The polymerization was carried out either by heating near the decomposition point of (IV) in high vacuum, or in indifferent solvents (pyridine, dioxan, nitrobenzene), mostly with the addition of initiators. Water, sodium hydroxide or glycine dimethyl amide were used as such.

The poly-O-acetylserine (V) thus obtained was soluble in hot glacial acetic acid and was precipitated from this solution by dry ether. Biuret and ninhydrin reactions were positive. According to analyses the average chain length was about fifty units. In order to obtain polyserine (VI) from polyacetylserine, experiments on deacetylation were carried out, using either lithium hydroxide, barium hydroxide or ammonia as saponification agents. Some difficulties were encountered in obtaining complete deacetylation without splitting the polymer peptide chain.

The polyserine preparations eventually obtained, on evaporating their aqueous solutions in vacuo, constituted hard films; polyserine is hygroscopic, easily soluble in water and gives both biuret and ninhydrin reactions. The average chain length was found by analyses to correspond to the parent acetyl derivatives.

M. Frankel, M. Breuer, and S. Cordova

Department of Organic Chemistry, The Hebrew University, Jerusalem, Israel, April 12, 1952.

Zusammenfassung

Eine befriedigende Methode für die Synthese von Polyazetylserin und von Polyserin geht von O-Azetylserin (II) aus, das aus D,L-Serin durch selektive Azetylierung mittels Essigsäureanhydrid in Eisessig unter katalytischer Mitwirkung von Perchlorsäure erhältlich ist[3]. (II) wird in Dioxansuspension durch Phosgen in O-Azetyl-N-chloroformylserin (III) übergeführt, das im Vakuum bei 40 bis 45° Chlorwasserstoff abspaltet und in O-Azetyl-N-carboxyserinanhydrid (IV) übergeht. Polymerisation von (IV), in der Hitze im Hochvakuum oder in inerten Lösungsmitteln unter Zusatz von Initiatoren, liefert Poly-O-azetylserin (V). Die durchschnittliche Ketten-

[1] W. Sakami and G. Toennies, J. Biol. Chem. *144*, 203 (1942).

[2] F. Fuchs, Ber. Dtsch. chem. Ges. *55*, 2943 (1922). – A. L. Levy, Nature *165*, 152 (1950). – A. C. Farthing and R. J. W. Reynolds, Nature *165*, 647 (1950) (cf. Patentliterature cited there). – A. C. Farthing, J. Chem. Soc. 3213 (1950).

[3] W. Sakami and G. Toennies, J. Biol. Chem. *144*, 203 (1942). Farthing, J. Chem. Soc. 3213 (1950).

länge entspricht etwa 50 Einheiten. Desazetylierungsversuche wurden mit Lithiumhydroxyd, Bariumhydroxyd und Ammoniak angestellt. Polyserin (VI) wurde als harter Film erhalten. Es ist hygroskopisch, wasserlöslich und zeigt positive Biuret- und Ninhydrinreaktion.

Contribution to the Structure of Granular Chloroplasts

The ultrastructure of chloroplasts is of importance for an understanding of the complicated reactions connected with photosynthesis. Although the grana in the chloroplasts of the higher plants are visible using the light as well as the electron microscope[1], there are still some unsolved problems which concern the structure of these important cell constituents. Three of these may be mentioned:

(a) What is the connection between chloroplast ultrastructure and the characteristic swelling in unphysiological media?

(b) How are the grana which are arranged in layers parallel to the surface of the chloroplasts[2] connected with each other? Is the chloroplast enclosed by a definite membrane?

(c) Is it possible to prove the proposed lamellar structure of the grana?

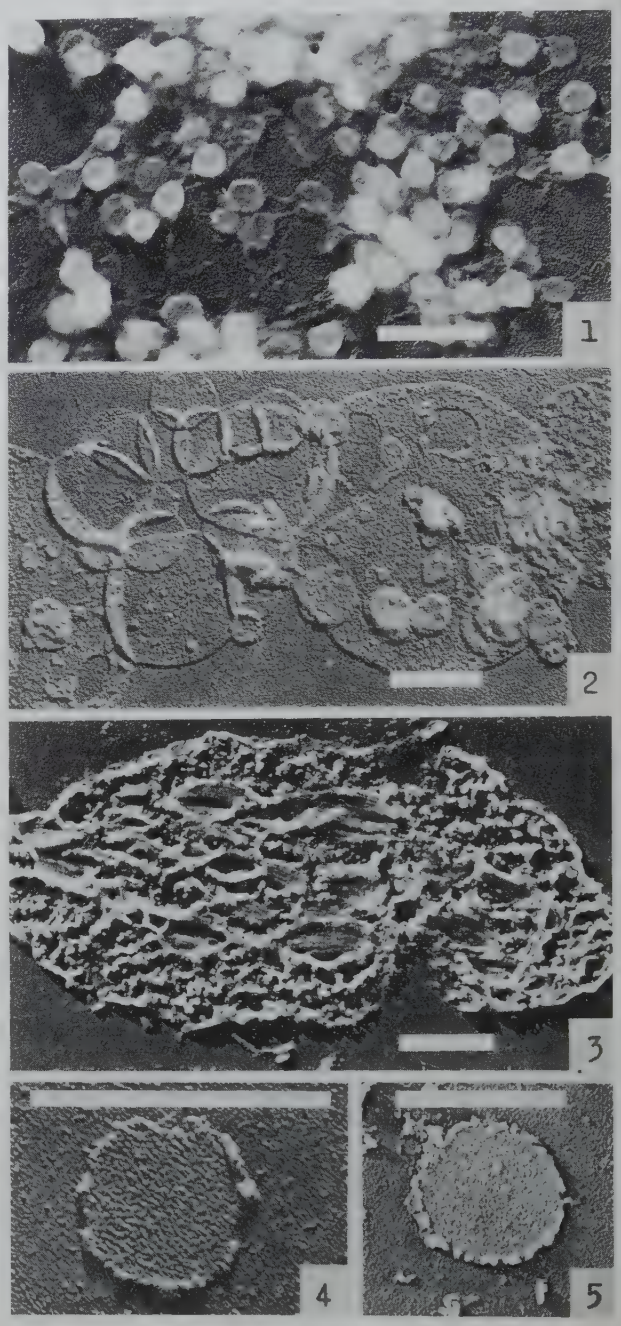
Modern methods of electron microscopy provide a mean to solve certain of these problems.

Swelling of Chloroplasts: The fact that different plant species show different patterns of swelling complicates the problem of the ultrastructural basis of swelling.

Sometimes the mere contact of chloroplasts with distilled water causes their swelling to structureless blebs of a foamy appearance. Thereby the grana, easily visible in material isolated with phosphate buffer pH 6·4 or sucrose solution (Fig. 1), disappear almost completely (Fig. 2). Spinach chloroplasts are very suitable for studying this phenomenon. Only exceptionally can intact grana be seen in preparations of swollen chloroplasts. We presume from the granular appearance of the surface of the formed blebs that the structural units responsible for the rapid swelling are globular particles. To consider these blebs, even when they are folded, as the remainder of a membrane surrounding the chloroplast, is highly questionable. As yet the existence of such a well defined membrane, suggested by indirect methods, has not been proved.

It will be an important task to investigate the connection between the characteristic swelling figures of certain chloroplasts and their ultrastructure. A valuable effort in this direction has been made by Strugger[3] using the phase microscope.

The Ultrastructure of the Grana: The same methods used to investigate the arrangement of the lamellae in the big algal chloroplasts[4] are suitable to inform us about the ultrastructure of the grana whose lamellar composition has already been suggested by experiments with the polarizing microscope[1] and the electron microscope[2].



The white mark on the photographs corresponds to one micron. All preparations are shadowed with chromium.

Fig. 1.–Spinach grana, isolated in phosphate buffer pH 6·4. 14,000:1.
Fig. 2.–Spinach chloroplast, isolated in distilled water. 12,000:1.
Fig. 3.–Section through a tulip chloroplast. Fixation 15 min with 1% OsO_4. 12,000:1.
Fig. 4.–Single circular layer obtained from a tulip chloroplast treated with sonic oscillations. Fixation 25 min with 1% OsO_4. 39,000:1.
Fig. 5.–Single circular layer obtained from an *Aspidistra* chloroplast treated with sonic oscillations. Fixation 17·5 h with 1% OsO_4. 22,000:1.

[1] E. Heitz, Planta *18*, 617 (1932); *26*, 134 (1936). – J. Doutreligne, Kon. nederl. Akad. Wetensch. *38*, 886 (1935). – L. Algera *et al.*, Biochim. biophys. acta *1*, 517 (1947). – S. Granick and K. R. Porter, Amer. J. Bot. *34*, 545 (1947). – A. Frey-Wyssling and K. Mühlethaler, Vjschr. naturf. Ges. Zürich *97*, 179 (1949).

[2] E. Heitz, Planta *26*, 134 (1936).

[3] S. Strugger, Ber. dtsch. bot. Ges. *64*, 69 (1951).

[4] E. Steinmann, Exptl. Cell Res. *3*, 367 (1952).

[1] W. Menke, Protoplasma *21*, 279 (1934).

[2] E. Steinmann, Exptl. Cell Res. *3*, 367 (1952). – A. Frey-Wyssling and K. Mühlethaler, Vjschr. naturf. Ges. Zürich *97*, 179 (1949).

Figure 3 shows a thin section through an OsO_4-fixed chloroplast of tulip prepared by standard methods (Minot rotary microtome, glass knife, *n*-butyl-methacrylate embedding). Many lens-shaped, regularly laminated areas corresponding to the grana can be observed. The structure of the section agrees well with a scheme proposed by FREY-WYSSLING[1]. However it is not yet possible to decide whether or not the so-called "carrier lamellae" are present by which the grana are supposed to be attached[2]. Further improvements in sectioning technique are necessary to settle this question.

By treating OsO_4-fixed granular chloroplasts with sonic oscillation (10 kc.), a suspension of circular lamellae of the diameter of a granum is obtained (Fig. 4 and 5). The thickness of these lamellae, about 70 Å, is in good agreement with the thickness of layers of similarly prepared algal chloroplasts.

We consider the circular lamellae as the structural units of a granum. A stack of such layers forming a cylinder composes the granum.

I wish to express my deep gratitude for the opportunity to carry out this work under the guidance and in the laboratory of Professor FRANCIS O. SCHMITT.

E. STEINMANN[3]

Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge 39, Mass., February 10, 1952.

Zusammenfassung

Es wird darauf hingewiesen, dass die an Chloroplasten zu beobachtenden Quellungserscheinungen auf keine wohldefinierte Chloroplastenmembran schliessen lassen. Durch Herstellung dünner Schnitte und durch Ultraschallbehandlung OsO_4-fixierter Chloroplasten kann gezeigt werden, dass die Granen aus Schichten aufgebaut sind.

[1] A. FREY-WYSSLING, Protoplasma *29*, 279 (1937).
[2] S. STRUGGER, Ber. dtsch. bot. Ges. *64*, 69 (1951).
[3] Present address: Pflanzenbiologisches Institut der ETH., Zürich, Switzerland.

The Occurrence of Melanin and Phenolases in *Holothuria forskali* Delle Chiaje

Recent investigations by the author[1] have shown that the echinoderms *Diadema antillarum* Philippi, and *Thyone briareus* Le Sueur, contain an amorphous granular pigment characterized by insolubility in a wide range of solvents, bleaching when subjected to oxidizing agents, and by the capacity to reduce ammoniacal silver nitrate under certain conditions (see LISON[2]).

The abundant, readily obtained black pigment in the body wall of *Holothuria forskali* also shows these properties, being but slightly soluble in water, pyridine, 1·0 *N* hydrochloric acid and 0·5 *N* sodium hydroxide, and insoluble in ethanol, acetone, benzene, ether, petrol ether, chloroform and carbon disulphide at room temperatures. It is bleached by chlorine, bromine, hydrogen peroxide, chromic acid, potassium permanganate and oxalic acid, and will reduce directly ammoniacal silver nitrate. Such properties are characteristic of melanin[3], and these findings strengthen earlier indications of its occurrence in this and other echinoderms[1].

As in *Diadema* and *Thyone*[2], coelomic fluid exposed to air *in vitro* forms a clot which darkens due to the formation within it of a black or brown pigment. In both *Holothuria* and *Diadema*, under microscopic examination, this can be seen to be due to the development of a yellow to dark brown colour in spheroidal cytoplasmic inclusions of the coelomic amoebocytes. Black or brown pigment granules also frequently appear at the periphery of the spheroids, and *in vitro* the pigment is eventually liberated by disintegration of the amoebocytes, with the formation (in *Holothuria*) of a dense reticulum of chocolate-brown pigment. This at once recalls the appearance and apparent mode of origin, of the skin pigment[3].

Since it has been shown in *Diadema*[4], that the colouring of the clot involves the action of phenolases which are present in the coelomic amoebocytes, it is highly significant that the existence of such enzymes can be clearly shown in *Holothuria*. Coelomic fluid, exposed to air and incubated at 24°C with buffered substrates (pH 6·5–7·3) such as "dopa", cresol (mixed isomers) and glycine, pyrocatechol and pyrogallol, readily yielded coloured oxidation products, provided that a detergent such as saponin or "cetavlon" was added to the mixture. L-tyrosine is blackened within 3 h, but oxidation of this and pyrocatechol, is inhibited completely by boiling, and strongly by 0·0002 *M* potassium cyanide at pH 7·3. The oxidation appeared unaffected by acetone, and 0·002 *M* sodium azide at pH 7·3. Thus the oxidations involve both mono- and poly-phenolases and are not attributable to cytochrome-oxidase[5]. It must be noted, however, that they appear unaffected by 0·001 *M* thiourea at pH 6·5 and but little by ultra-violet irradiation.

The enzyme system is associated with the coelomic amoebocytes and is not present in the fluid per se, a fact which is most suggestive when it is borne in mind that it is in the amoebocytes that granular brown or black pigment appears in relation with the spheroids. It is also noteworthy that, whereas in *Diadema* a heat-labile factor inhibiting pigment production exists in the coelomic fluid[4], I have found no evidence of such a factor in *Holothuria*.

The precise relation between the phenolases and colouring of the spheroidal inclusions of the amoebocytes awaits further investigation, but it may be noted that in *Diadema*[4], pigment produced in the clot has been shown to possess the characteristics of melanin, and its production is influenced by the same factors as those which affect phenolases.

A full account of the work will be published elsewhere. My thanks are due to the Director and staff of the Plymouth Station of the Marine Biological Association of the United Kingdom where the work was carried out.

N. MILLOTT

Department of Zoology, University College of the West Indies, Jamaica B.W. 1, March 26, 1952.

[1] N. MILLOTT, Biol. Bull. *99*, 329, 343 (1950). – N. MILLOTT and F. W. JACOBSON, J. Invest. Dermat. *18*, 91 (1952).
[2] L. LISON, *Histochimie animale* (Gauthier-Villars, Paris 1936), p. 249.
[3] L. LISON, *Histochimie animale* (Gauthier-Villars, Paris 1936), p. 249. – J. VERNE, *Les pigments dans l'organisme animal* (Gaston Doin, Paris 1926).
[1] M. A. BRIOT, C. r. Soc. Biol. *60*, 1156 (1906). – L. CORNIL, M. MOSINGER, and M. CALEN, C. r. Soc. Biol. *119*, 106 (1935).
[2] N. MILLOTT, Biol. Bull. *99*, 343 (1950). – N. MILLOTT and F. W. JACOBSON, Nature *168*, 878 (1951).
[3] L. CORNIL, M. MOSINGER, and M. CALEN, C. r. Soc. Biol. *119*, 106 (1935).
[4] N. MILLOTT and F. W. JACOBSON, Nature *168*, 878 (1951).
[5] D. KEILIN, Proc. roy. Soc. [B] *121*, 165 (1936). – D. KEILIN and E. F. HARTREE, Proc. roy. Soc. [B] *125*, 171 (1938).

Zusammenfassung

Das Hautpigment von *Holothuria forskali* zeigt die Eigenschaften des Melanins. Das Pigment scheint auf dem Zerfall von Amöbozyten zu beruhen, die dieselben sind wie die Amöbozyten der Zölomflüssigkeit.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Amöbozyten ein Phenolasesystem besitzen. Das Koagulum, das durch Zusammenballung dieser Amöbozyten geformt wird, bräunt sich durch Luftzutritt infolge der Pigmentproduktion, die an die zytoplasmatischen Einschlusskörperchen gebunden ist.

Caroténoïdes et différenciation sexuelle chez *Allomyces*

Selon Emerson et Fox[1], la différenciation des gamétanges mâles chez *Allomyces* s'accompagne d'une active et sélective synthèse de γ-carotène. Une telle spécificité d'association a suggéré à ces auteurs la possibilité d'une participation des caroténoïdes aux phénomènes sexuels chez *Allomyces*.

Dès nos premières recherches sur le pouvoir inhibiteur de la diphénylamine à l'égard de la caroténogenèse chez *Mycobacterium phlei*[2], nous avons pensé que l'emploi de cet inhibiteur pourrait fournir d'intéressantes informations sur la relation carotène–sexualité chez *Allomyces*. Des essais préliminaires nous avaient en effet montré que la production des caroténoïdes chez un autre Phycomycète, *Mucor hiemalis* (souche +) pouvait être fortement réduite avec 1/40 000 de diphénylamine[3]. Goodwin[4] a dès lors entrepris une série de recherches sur l'action différentielle de cet inhibiteur sur la genèse des divers polyènes de *Phycomyces blakesleeanus*.

Nous avons cultivé la phase sexuelle d'*Allomyces javanicus* (souche de Kniep) sur milieu solide à base d'amidon et d'extrait de levure (Emerson et Fox[5]), additionné de différentes concentrations de diphénylamine. Nous avons trouvé que 1/100 000 de cet inhibiteur suffit à empêcher toute apparition du pigment orange dans les gamétanges mâles. A l'examen microscopique, ces derniers ne se distinguent plus des gamétanges femelles que par leur taille plus réduite et leur position épigyne.

Il était dès lors intéressant de suivre l'évolution des processus sexuels chez cet *Allomyces* incolore. Nous avons pu constater microscopiquement que la libération des gamètes, tant mâles que femelles, a lieu de manière apparemment normale et avons pu observer plusieurs planozygotes biciliés incolores; ceux-ci n'ont pas tardé à germer avec la bipolarité normale rhizoïdes-hyphe principal. Un seul fait nous a frappé à chaque nouvelle observation du matériel inhibé: l'activité réduite des gamètes mâles incolores dont la mobilité est plus sporadique et de plus courte durée que celle des gamètes orange de la culture témoin. En revanche, aucune anomalie de comportement n'a pu être notée dans le cas des gamètes femelles provenant des cultures sur milieu diphénylamine.

Malgré cette réduction de l'activité motrice des gamètes mâles, l'évolution des processus sexuels chez *Allomyces* peut donc s'effectuer en l'absence, visuellement complète, de γ-carotène dans les gamétanges et gamètes mâles. L'activité de traces de caroténoïdes (décelables par extraction acétonique de cultures inhibées) dans ces processus n'est toutefois pas exclue.

Parallèlement à ces premières observations, nous poursuivons une étude analytique des polyènes de l'*Allomyces*; les résultats en seront publiés prochainement.

Nous tenons à remercier le Comité suisse d'échange universitaire Suisse-U.S.A. grâce à l'intermédiaire duquel nous avons pu bénéficier d'un Research Fellowship à la Johns Hopkins University.

Nous exprimons notre reconnaissance à M. le professeur F. Haxo pour ses précieux conseils et les facilités de travail offertes par son laboratoire.

G. Turian[1]

Institut de Biologie, Johns Hopkins University, Baltimore, U.S.A., le 2 mai 1952.

Summary

The inhibition by 1/100 000 diphenylamine of γ-carotene formation in the male gametangia of *Allomyces javanicus* is reported.

Such inhibition reduces the motility of the male gametes without preventing subsequent formation of planozygotes.

[1] Adresse actuelle: Petit-Lancy, Genève.

Hemmung der Gehirnatmung durch Alkylphosphate *in vitro*

Gestützt auf eine Anzahl von Untersuchungen, in denen sich kein Einfluss der Alkylphosphate DFP (Diisopropyl-Fluorphosphat) und Parathion (*p*-Nitrophenyl-Diäthyl-Thiophosphat) auf die Zellatmung des Gehirns und anderer Gewebe *in vitro* und *in vivo* nachweisen liess[1], wird heute allgemein angenommen, dass die toxische Wirkung dieser Substanzen allein auf der durch sie hervorgerufenen Hemmung der Cholinesteraseaktivität des Gehirns beruhe[2]. Da jedoch auch eine Beobachtung über Hemmung der Atmung und Dehydraseaktivität des Froschgehirns durch DFP und TEPP (Tetra-Äthyl-Pyrophosphat) vorliegt[3], könnte vielleicht eine systematische Untersuchung mit Alkylphosphaten eine gewisse, diesen Stoffen allgemein zukommende Wirkung auf die Gewebsatmung des Gehirns nachweisen.

Wir untersuchten zunächst die Alkylphosphate *Parathion*, *Pestox III* (Bis-bis-[Dimethylamino-]Phosphorsäureanhydrid), *PestoxXIV* (Bis-[Dimethylamino-]Fluorphosphinoxyd) und *Pestox XV* (Bis-[Monoisopropylamino-]Fluorphosphinoxyd) in ihrer Wirkung *in vitro* auf die Atmung von Gehirnschnitten vom Meerschweinchen. Die Gewebsatmung wurde mit der direkten Methode nach Warburg in Krebs-Phosphatringer bestimmt, wobei der normale QO_2 für 1½ Stunden 8,57 ± 1,16 betrug. Es ergab sich, dass im Konzentrationsbereich 10^{-2} bis 10^{-4} m die genannten Verbindungen eine signifikante Hemmwirkung besitzen (Abb. 1), wobei die Aktivitätsreihe wie folgt verläuft: Pestox XIV > Parathion >

[1] R. Emerson et D. L. Fox, Proc. roy. Soc. London [B] *128*, 275 (1940).

[2] G. Turian, Helv. chim. acta *33*, 1988 (1950).

[3] G. Turian, Résultats non publiés (1950).

[4] T. W. Goodwin, Biochem. J. *49*, 23 (1951); *50*, 550 (1952).

[5] R. Emerson et D. L. Fox, Proc. roy. Soc. London [B] *128*, 275 (1940).

[1] S. Ellis, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *69*, 363 (1948). – E. C. Webb, Bioch. J. *42*, 96 (1948). – K. P. DuBois, J. Doull, R. P. Salerno und J. M. Coon, J. Pharmacol. exp. Ther. *95*, 75 (1949).

[2] D. Nachmansohn, in: G. Pincus und K. V. Thimann, *The Hormones* (Academic Press, New York 1948).

[3] V. B. Brooks, R. E. Ransmeier und R. W. Gerard, Amer. J. Physiol. *157*, 299 (1949). – M. Michaelis, N. J. Arango und R. W. Gerard, Amer. J. Physiol. *157*, 463 (1949).

Pestox III > Pestox XV. Gleichzeitig erfolgte die Bestimmung der Cholinesteraseaktivität des Gehirns nach der manometrischen Methode von Ammon[1]. Der Normal-

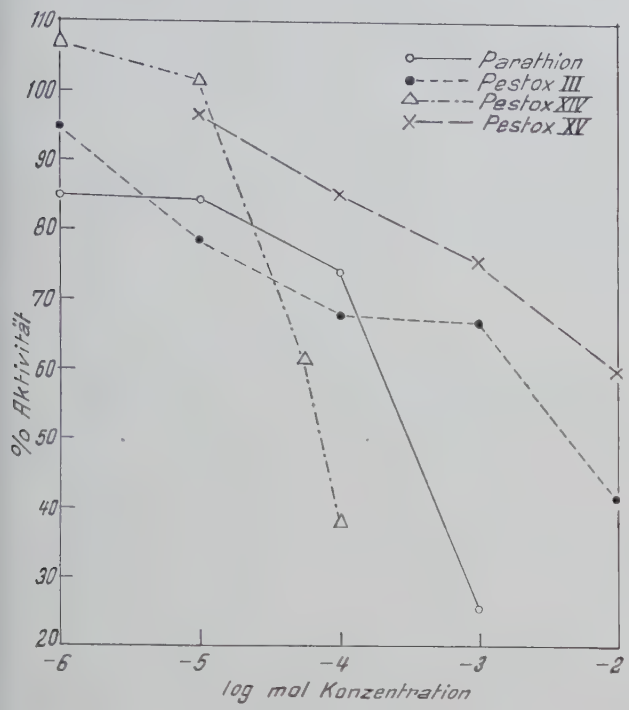


Abb. 1. Wirkung auf die Atmung.

wert ergab sich für 1:20 verdünntes Gehirn-Homogenat und Azetylcholinkonzentration von 0,05% mit 141,2

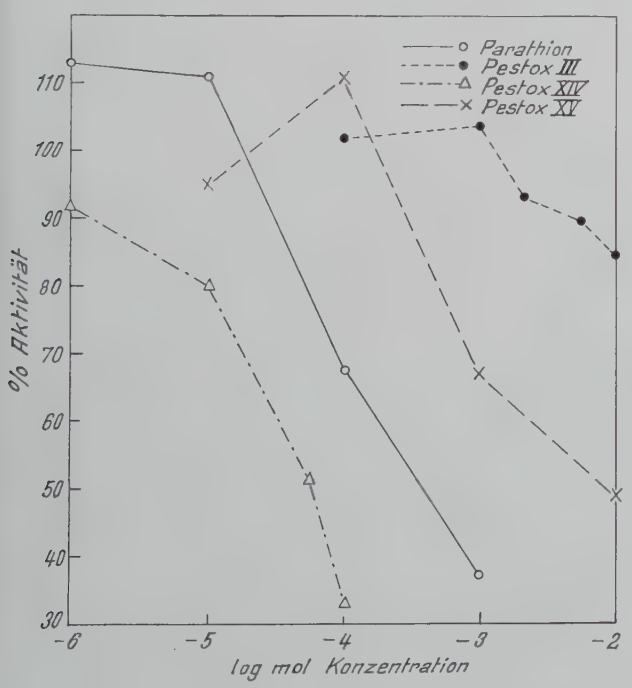


Abb. 2. Wirkung auf die Cholinesteraseaktivität.

± 8,5 µl CO_2/2,0 ml Homogenat/90 min. Die Mischung des Fermentpräparates mit dem Inhibitor erfolgte unmittelbar zu Versuchsbeginn. Es zeigte sich (Abb. 2), dass, mit Ausnahme von Pestox III, die untersuchten Substanzen hier eine stärkere Hemmwirkung als auf die Atmung ausüben. Ob das Vorherrschen einer Wirkung auf die Cholinesteraseaktivität nur bei Alkyl-*Fluor*phosphaten, wie Pestox XIV und XV sowie DFP, und Alkyl-*Thio*phosphaten, wie Parathion, zutrifft, dagegen reine Alkylphosphate, wie Pestox III, eher eine Wirkung auf die Zellatmung entfalten, muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Die hier mitgeteilten Ergebnisse scheinen die Vermutung[1], dass die Aktivität des Nervengewebes durch Alkylphosphate auch auf andere Weise als nur durch Hemmung der Cholinesterase beeinflusst werden könnte, zu bestätigen.

Parathion, Pestox III, XIV und XV wurden uns vom Chemical Research Department, Pest Control Ltd., Harston, Cambridge, zur Verfügung gestellt.

A. Locker und H. Siedek

I. Medizinische Klinik der Universität Wien, 3. Februar 1952.

Summary

Several alkylphosphates, being more or less inhibitory on cholinesterase-activity of brain, are shown to inhibit also the tissue respiration of brain slices *in vitro*.

[1] R. Ammon, Pflügers Arch. *233*, 486 (1933).

[1] V. B. Brooks, R. E. Ransmeier und R. W. Gerard, Amer. J. Physiol. *157*, 299 (1949).

Effetti della leucotomia prefrontale sull'azione anoressica della Benzedrina

La Benzedrina (Simpamina, Anfetamina) esercita sull'uomo una caratteristica azione anoressica, che è stata confermata sperimentalmente anche sull'animale[1]. Scopo delle nostre ricerche è stato quello di appurare in quale misura questa azione anoressica potesse venire influenzata dall'ablazione dei lobi frontali. Tale problema è stato già accennato da Harris, Ivy e Searle[2], nel riportare alcuni dati ottenuti somministrando Benzedrina in soggetti operati di leucotomia prefrontale.

Per lo studio delle localizzazioni funzionali dell'area prefrontale, negli animali di laboratorio è stata praticata sia l'ablazione mono o bilaterale di questa regione (lobectomia), sia il taglio delle vie che da essa partono (leucotomia). A seguito di questi interventi nelle scimmie, sono state riscontrate variazioni dell'attività spontanea[3], dell'assunzione del cibo[4], e modifiche delle capacità associative e mnemoniche[5]. Nei ratti è stata notata una variazione del carattere, dell'assunzione del cibo e dell'attività spontanea[6].

Le nostre esperienze sono state condotte su cani adulti di media taglia. Gli animali venivano abituati a consumare un pasto standard che era loro presentato solo per un'ora al giorno. Dopo breve tempo si otteneva una perfetta assuefazione dell'animale a tale ritmo di alimenta-

[1] S. C. Harris, A. C. Ivy e L. M. Searle, J. Amer. Med. Ass. *134*, 1468 (1947). – E. J. Fellows, E. Macko e A. J. Fendrick, J. Pharmacol. *100*, 72 (1950).

[2] S. C. Harris, A. C. Ivy e L. M. Searle, J. Amer. Med. Ass. *134*, 1468 (1947).

[3] M. A. Kennard, S. Spencer e G. Fountain, J. Neurophysiol. *4*, 512 (1941).

[4] T. C. Ruch e H. A. Shenkin, J. Neurophysiol. *6*, 349 (1943).

[5] K. H. Pibram, J. Neurophysiol. *13*, 373 (1950). – T. S. Blum, K. L. Chow e R. A. Blum, J. Neurophysiol. *14*, 197 (1951).

[6] C. P. Richter e C. D. Hawkes, J. Neurol. Psychiat. *2*, 231 (1939).

zione. Quando in seguito all'iniezione di benzedrina il pasto non era consumato subito, esso veniva ripresentato onde poter apprezzare il momento dell'assunzione del cibo. In alcune esperienze è stata registrata inoltre l'attività spontanea a mezzo di una gabbia a fondo mobile.

La leucotomia è stata eseguita in anestesia penthotal-succinilcolina-NO_2 attraverso due fori praticati nella volta cranica a livello della corteccia frontale. La localizzazione e l'estensione delle lesioni è stata controllata mediante tagli istologici seriali.

Il decorso post-operatorio si svolgeva nei casi favorevoli senza complicazioni e dopo quattro-cinque giorni il cane era completamente ristabilito. Non sono state notate variazioni sia nel comportamento generale, sia nell'assunzione del cibo rispetto a prima dell'operazione.

La Benzedrina (1 mg/kg, sottocute) teneva lontani dal cibo gli animali, abituati a consumare tutto il pasto in breve tempo, per un periodo variabile da 5 a 7 ore. L'attività spontanea era anche molto aumentata. È stato notato un parallelismo tra azione anoressica ed attività spontanea, nel senso che quanto più l'animale era eccitato, tanto più a lungo restava lontano dal cibo.

In tre cani leucotomizzati, la Benzedrina, iniettata alle stesse dosi, non provocava più la caratteristica inappetenza, ed anche l'eccitazione risultava minore. Solo con dosi maggiori (5 mg/kg) si potevano ottenere risultati equivalenti a quelli ottenuti prima dell'intervento con dosi minori.

L'effetto così caratteristico della leucotomia prefrontale nell'opporsi all'anoressia benzedrinica, oltre ad apportare un contributo alla conoscenza del meccanismo di azione di questo farmaco, costituisce inoltre un nuovo test oggettivo delle modificazioni psichiche in seguito alla soppressione funzionale dei lobi frontali.

V. G. Longo e N. Di Ferrante

Laboratorio di Chimica Terapeutica, Istituto Superiore di Sanità, Roma, il 26 marzo 1952.

Summary

In frontally leucotomized dogs, amphetamine has no anorexic action in small doses, while the action of large doses is diminished.

Kälte- und Hypoxietoleranz von Rattenembryonen

Um warmblütige Tiere abzukühlen, gibt es zwei verschiedene Methoden:

1. Man setzt erwachsene Warmblüter (Ratten, Kaninchen, Katzen, Meerschweinchen) in einem geschlossenen Gefäss von 2 bis 5°C einer zunehmenden Erstickung aus, wobei sie in 1 bis 2 Stunden durch O_2-Mangel abkühlen (Giaja[1]).

2. Die zweite Methode besteht darin, dass man die Tiere in kaltes Wasser eintaucht (Adolph[2]) oder kalte Luft an ihnen vorbeiströmen lässt (Lutz[3]) und so ihre Körpertemperatur erniedrigt.

Bei der ersten Methode beträgt die letale Körpertemperatur 7°C (Andjus)[4]; bei der zweiten +14,8 + 0,5°C (Adolph)[2] bzw. 0 bis +1 (Lutz[3]).

Neugeborene und sehr junge Ratten können fast bis auf 0°C abgekühlt und danach wiederhergestellt werden (Adolph[2], Fairfield[5]).

[1] J. Giaja, C. r. Soc. biol. *210*, 80 (1940). – J. Giaja und R. Andjus, C. r. Soc. biol. *229*, 1170 (1949).

[2] E. F. Adolph, Amer. J. Physiol. *155*, 378 (1948); *161*, 371 (1950).

[3] W. Lutz, Z. ges. exp. Med. *115*, 615 (1950); Arch. inn. Med. *1*, 470 (1950).

[4] R. Andjus, C. r. Soc. biol. *232*, 1591 (1951).

[5] J. Fairfield, Amer. J. Physiol. *155*, 355 (1948).

Dass die Kälte eine starke Wirkung auch auf die Eier der Wirbeltiere haben kann, zeigten Fankhauser und Griffiths[1] an Eiern amerikanischer und japanischer Molcharten. Sie setzten sie unmittelbar nach der Befruchtung einer Kälte von +0,5 bis +3°C aus. Der Effekt war, dass haploide, diploide und triploide Larven entstanden. Fischberg[2] benützte in ähnlichen Versuchen künstlich befruchtete Eier von *Triton alpestris*, aus welchen sich haploide und diploide bis tetraploide Larven entwickelten. Thibault[3] behandelte frisch ovulierte Kaninchenei mit tiefen Temperaturen und konnte sie auf diese Weise aktivieren, so dass sie sich bis zur Blastula entwickelten.

Tabelle I

Normale Kontrollen

Nummer des Tieres	Geburt nach der Befruchtung in Tagen	Lebend geboren +, tot geboren —	Zahl der Neugeborenen	Durchschnittliches Gewicht in Gramm
1	24	+	7	5,1
2	22	+	8	4,9
3	23	+	11	5,0
4	23	+	8	5,0
5	23	+	4	6,0
6	23	+	7	5,9
7	22	+	10	4,6
8	23	+	5	5,2
9	22	+	8	5,2
10	23	+	11	5,3
11	22	+	8	5,5
12	23	+	8	5,3
13	22	+	8	4,7
14	22	+	5	5,2
15	22	+	11	4,4
16	23	+	7	6,0
17	23	+	7	5,1
18	23	+	6	6,0
19	22	+	8	5,0
20	23	+	9	5,6
21	23	+	9	5,5
22	22	+	10	4,5
23	23	+	11	4,5
24	23	+	7	6,0
25	22	+	3	6,0
26	22	+	9	4,7
27	22	+	7	5,3
28	24	—	6	3,8
29	23	+	8	5,5
30	23	+	10	4,9
Mittelwert	22,7	—	7,86	5,19

Indem ich trächtige Weibchen der weissen Ratte nach Giajas Abkühlungsmethode behandelte, untersuchte ich gleichzeitig auch die Kälte- und Hypoxietoleranz der Embryonen. Die Versuchs- und Kontrolltiere gehören einem langjährigen Zuchtstamm des Physiologischen Institutes an.

Die Methode ist folgende: Die Ratten wurden in ein hermetisch geschlossenes Glas eingesperrt und dieses in eisgekühltes Wasser eingetaucht. Im Innern herrschte eine Temperatur von nahezu 0°C. Wenn die Dyspnoe zu stark wird, öffnet man gelegentlich das Glas und schliesst es sogleich wieder, bis die Temperatur des Tieres auf 12–15°C sinkt. Dann ist keine Dyspnoe mehr vorhan-

[1] G. Fankhauser und R. Griffiths, Proc. nat. Acad. Sci. *25*, 233 (1939).

[2] M. Fischberg, Rev. suisse Zool. *51*, 430 (1944).

[3] Ch. Thibault, C. r. Soc. biol. *224*, 297 (1947).

Tabelle II
Gekühlte Tiere

Nummer des Tieres	Abkühlung nach der Befruchtung in Tagen	Niedrigst gemessene Rektaltemperatur des Muttertieres in °C	Dauer der Untertemperatur in Stunden	Geburt nach der Befruchtung in Tagen	Lebend geboren +, tot geboren —	Zahl der Neugeborenen	Durchschnittliches Gewicht in Gramm*
444	1	16,7	4	22	+	8	4,7
445	1	17,3	4½	23	+	7	4,7
447	2	13,6	6½	24	+	7	5,7
448	2	14,6	6	24	+	7	6,2
438	3	15,0	5	22	+	8	4,4
440	3	15,5	5	21	+	10	5,0
449	4	16,0	6	24	+	6	5,2
450	4	16,4	8	24	+	7	5,7
455	5	20,8	5	24	+	6	5,0
453	6	12,2	6½	24	+	8	5,2
456	7	16,4	4½	—	+	7	—
468	8	15,5	5½	23	+	7	6,0
442	9	16,0	6	23	+	8	5,2
443	9	20,9	6	23	+	8	5,3
441	10	16,5	7	23	+	7	5,2
462	11	14,4	6½	24	+	8	5,1
463	12	15,1	5	24	+	7	5,2
464	12	15,4	4½	24	+	7	5,3
427	13	17,3	6	22	+	6	4,6
420	14	16,3	5½	23	+	8	5,2
421	14	21,5	5	22	+	13	4,5
429	14	18,3	4	24	—	—	—
418	15	23,0	3	22	+	11	4,5
419	15	18,1	5	24	—	5	6,0
416	16	18,8	4½	20	+	7	4,7
417	16	15,6	5	23	+	7	5,2
422	16	19,0	4	24	+	7	—
413	18	19,2	4	—	+	7	5,3
404	19	16,1	8	22	+	9	4,3
414	20	17,9	4½	—	+	8	—
412	21	16,8	5½	23	—	—	—
Mittelwert	—	—	—	23,9	—	7,96	5,12

* Die Neugeborenen hatten manchmal schon Milch gesäugt.

den. Das Tier befindet sich in einem bewusstlosen, narkoseähnlichen Zustand. Es kann bis 20 Stunden in diesem Zustand bleiben, wenn die Temperatur der umgebenden Luft auf 15–16°C gehalten wird; dabei bleibt seine Temperatur ebenfalls auf etwa dieser Höhe.

Jedes Weibchen wurde im Laufe der Trächtigkeit nur einmal, an einem bestimmten Zeitpunkt, abgekühlt und 4 bis 8 Stunden in dem anästhetischen Zustand gehalten. Die Rektaltemperatur des Muttertieres wurde mit einem gebogenen, ins Rektum 3 cm tief eingeführten Rattenthermometer gemessen[1].

Die Versuche sind in Tabelle II zusammengefasst.

30 Kontrolltiere wurden während des Versuches beobachtet. Ihre Tragzeit und übrige Angaben sind aus Tabelle I ersichtlich.

Von 31 Graviditäten der abgekühlten Tiere wurde in 3 Fällen das Geburtsdatum nicht bestimmt; je 1mal erfolgte die Geburt am 20. und 21. Tag, 6mal am 22., 8mal am 23. und in 12 Fällen am 24. Tage. Bei 3 Tieren wurden die Jungen tot geboren. Das durchschnittliche Gewicht neugeborener Ratten von 26 Würfen war 5,12 g; die mittlere Wurfzahl von 29 Tieren betrug 7,96.

Von 30 Kontrolltieren warfen nur 2 Tiere am 24. Tag, wovon eines dieser Tiere tote Junge warf; nach dem Gewicht zu urteilen waren die Jungen schon *in utero* gestorben. Bei den Übrigen erfolgte die Geburt am 22. und 23. Tage. Alle wurden lebend geboren; durchschnittliches Gewicht 5,19 g; mittlere Wurfzahl 7,86.

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl das Muttertier, als auch die Embryonen zu jedem Zeitpunkt der Trächtigkeit eine tiefe Hypoxie und eine niedrige Körpertemperatur (von 12–20°C) aushalten können. Trotz der Kältebehandlung geht die Schwangerschaft normal weiter. Es werden vollständig normale Junge geboren. Ihr weiterer Lebenslauf ist ebenfalls ganz normal.

Bei gekühlten Ratten beobachtete ich entweder eine normale Geburtsfrist oder auch Frühgeburt oder Verlängerung der Gravidität. Ob diese grössere Variation bei den Versuchstieren vom Zeitpunkt der Abkühlung abhängt oder nur Ausdruck individueller Schwankungen ist, werden weitere Untersuchungen an einer grösseren Zahl von Versuchs- und Kontrolltieren zeigen müssen.

Weitere Untersuchungen sollen auch zeigen, wie oft man dieselbe trächtige Ratte abkühlen kann und ob diese Abkühlung temporäre oder dauernde morphophysiologische Veränderungen bei den Embryonen verursacht.

V. Vidović

Institut für allgemeine Physiologie der Universität Belgrad, den 15. März 1952.

[1] Der Zeitpunkt der Befruchtung wurde durch Nachweis von Sperma bzw. dem Vaginalpfropf festgestellt.

Summary

Pregnant female white rats were cooled in a closed vessel with insufficient O_2 and at low temperature. Their body temperature decreased from 37° to 12–15° C. Each female was cooled only once at a definite period of pregnancy, and it was shown that she could tolerate deep hypoxy and low body temperature. She bears normal young in no way differing from control animals. It seems that the length of pregnancy may vary.

Effect of a Protein Deficient Diet upon some Enzymatic Activities of the Brain, Lung, and Kidney of Rats

Some modifications of enzymatic activities are known in the liver of rats receiving a protein-deficient diet. Seifter *et al.*[1] observed a decrease of the arginase and d-amino acid oxidase accompanied by a loss of tissue proteins. Harkness *et al.*[2] showed the same concerning the concentration of coenzyme A, essential for the sulfamide acetylation, and Miller[3] reported the same for the catalase, alkaline phosphatase, xantine dehydrogenase, cathepsin and arginase. Bargoni[4] observed, beside a decrease of more than 1/3 of the nitrogen content of the organ, different behaviour for different enzymatic activities: among them, one (dipeptidase) remains almost unchanged, another increases remarkably (alcaline phosphatase), while others, the majority, show a more or less accentuated decrease (esterase, pyrophosphatase, adenosintriphosphatase, arginase, catalase, succinic dehydrogenase and choline dehydrogenase). Very recent researches made by Ely and Ross[5] confirm the alkaline phosphatase increase, but do not show any appreciable change in the acid phosphatase. While information concerning the activity of liver enzymes in animals on a protein-deficient diet can be found, even if scanty, reports about other organs are very scarce[6]. Therefore we thought it interesting to continue research on the subject, comparing the behaviour of enzymatic activities of the brain, lung and kidney of rats receiving a quantitatively and qualitatively complete diet, with that of rats receiving a protein-deficient diet.

The experimental technique is the same as that described by Bargoni[7]. The results are shown in Table I and II.

It is easy to detect a decrease of nitrogen in the brain and kidney of rats receiving a protein deficient diet. The water content remains almost unchanged. In the brain, lung and kidney the behaviour of the enzymatic activities analysed does not appear to be consistent. Only adenosinetriphosphatase always shows a decrease, although of varying range, while succinic dehydrogenase decreases only in the lung, esterase and choline dehydrogenase only in the kidney. Phosphomonoesterase, pyrophosphatase, dipeptidase and catalase remain unchanged.

Table I

Water and nitrogen content of the brain, lung and kidney of rats receiving a normal and a protein deficient diet.

Diet	Water g/kg	Nitrogen g/kg
Brain		
Of control	769 ± 13	19 ± 4
Protein-deficient	762 ± 12	15 ± 3
Difference in %	−0·9	−21·0
Lung		
Of control	788 ± 19	22 ± 2
Protein-deficient	786 ± 19	20 ± 3
Difference in %	−0·2	−9·1
Kidney		
Of control	763 ± 18	25 ± 5
Protein-deficient	762 ± 24	20 ± 4
Difference in %	−0·1	−20·0

Table II

Enzymatic activities of the brain, lung and kidney of rats receiving a normal and a protein deficient diet

Diet	Brain	Lung	Kidney
Esterase, ml 0·01 n NaOH			
Of control	—	0·47 ± 0·18	1·61 ± 0·68
Protein-deficient	—	0·23 ± 0·13	1·59 ± 0·46
Difference in %	—	−51·1	−1·2
Phosphomonoesterase, inorganic P split off γ			
Of control	16·7 ± 8·4	27·0 ± 10	278·7 ± 35
Protein-deficient	18·0 ± 7	26·9 ± 10	265·6 ± 46
Difference in %	+7·8	−0·4	−4·7
Pyrophosphatase, inorganic P split off γ			
Of control	12·6 ± 5	16·9 ± 5	122·1 ± 21
Protein-deficient	12·6 ± 4	15·3 ± 4	130·3 ± 25
Difference in %	0	−9·5	−6·7
Adenosinetriphosphatase, inorganic P split off γ			
Of control	59·3 ± 7	97·2 ± 15	119·2 ± 18
Protein-deficient	31·4 ± 9	83·1 ± 17	83·8 ± 20
Difference in %	−47·0	−14·5	−30·1
Dipeptidase, % of hydrolised glycil-glycine			
Of control	0·85 ± 0·26	1·37 ± 0·33	1·56 ± 0·18
Protein-deficient	0·83 ± 0·17	1·26 ± 0·30	1·49 ± 0·13
Difference in %	−2·3	−8·0	−4·5
Succinic dehydrogenase, QO_2			
Of control	40·5 ± 13	10·9 ± 6	67·7 ± 10
Protein-deficient	40·6 ± 13	6·7 ± 4	69·2 ± 11
Difference in %	+0·2	−38·5	+2·2
Choline dehydrogenase, QO_2			
Of control	—	—	39·8 ± 4
Protein-deficient	—	—	25·8 ± 6
Difference in %	—	—	−35·2
Catalase, K 10^{-2}			
Of control	0·140 ± 0·023	0·159 ± 0·003	0·215 ± 0·018
Protein-deficient	0·144 ± 0·014	0·161 ± 0·008	0·197 ± 0·011
Difference in %	+2·8	+1·3	−8·5

[1] S. Seifter, D. M. Harkness, L. Rubin, and E. Muntwyler, J. Biol. Chem. *176*, 1371 (1948).

[2] D. M. Harkness, S. Seifter, B. Novic, and E. Muntwyler, Arch. Biochem. *22*, 204 (1949).

[3] L. L. Miller, J. Biol. Chem. *186*, 253 (1950).

[4] Nora Bargoni, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *26*, 942 (1950); Exper. *7*, 104 (1951).

[5] J. O. Ely and M. H. Ross, Nature *168*, 323 (1951).

[6] H. Pollack and S. L. Halpern, Advanc. Protein Chem. *6*, 429 (1951).

[7] Nora Bargoni, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *26*, 942 (1950); Exper. *7*, 104 (1951).

Therefore the enzymatic activities of the brain, lung and kidney show a peculiar behaviour in relation to the proteins of the diet, but no relation to the nitrogen decrease in the organs following a protein-deficient diet. In contrast to the liver, in the brain, kidney and lung a division of the enzymes into indispensable and non-indispensable seems to be feasible, according to VIRTANEN and WINKLER's suggestion[1] for microorganisms.

NORA BARGONI, M. CAFIERO, S. DI BELLA, E. DE MORI, and M. A. GRILLO.

Department of Biological Chemistry, University of Torino, November 10, 1951.

Zusammenfassung

Bei einigen einer proteinarmen Ernährung ausgesetzten Ratten untersuchten die Verfasser die eventuellen Veränderungen einiger enzymatischer Aktivitäten des Gehirns, der Lunge und der Niere. Geprüft wurden Esterase, Phosphomonoesterase, Pyrophosphatase, Adenosintriphosphatase, Dipeptidase, Succinodehydrogenase, Cholindehydrogenase und Katalase mit folgenden Ergebnissen: Phosphomonoesterase, Pyrophosphatase, Dipeptidase und Katalase bleiben in allen Organen unverändert; Adenosintriphosphatase zeigt eine je nach den Fällen verschiedene Abnahme; Succinodehydrogenase nimmt in der Lunge ab, Esterase und Cholinedehydrogenase in der Niere. Eine Herabsetzung des Stickstoffgehaltes wird im Gehirn und in der Niere festgestellt; der Wassergehalt bleibt unverändert. Die Veränderungen der untersuchten enzymatischen Aktivitäten können mit der Abnahme des Stickstoffgehaltes der Organe nicht in Zusammenhang gebracht werden.

[1] A. I. VIRTANEN and V. WINKLER, Acta chem. Scand. *3*, 272 (1949).

Beschleunigung des Alkoholabbaus durch Fruktose beim Menschen

Nach WESTERFELD, STOTZ und BERG[1] beschleunigt Brenztraubensäure bei Hunden den Abbau des Äthylalkohols um mehr als 200%. Dabei werden Alkohol und Brenztraubensäure oxydoreduktiv zu Azetaldehyd und Milchsäure umgewandelt:

$$\underset{\text{Alkohol}}{CH_3CH_2OH} + \underset{\text{Brenztraubensäure}}{CH_3COCOOH} = \underset{\text{Azetaldehyd}}{CH_3CHO} + \underset{\text{Milchsäure}}{CH_3CHOHCOOH}$$

Intravenös zugeführte Fruktose beschleunigt die Konstante des Alkoholabfalls im Blut normaler Hunde durchschnittlich um 80%, Glukose um 10%[2]. Da nach Fruktosebelastung im Blut normaler Tiere mehr Brenztraubensäure erscheint als nach Glukosezufuhr[3], kann die bessere Wirkung der Lävulose auf die intermediär gebildete Ketosäure zurückgeführt werden. Anderseits steigt die Brenztraubensäurekonzentration im Blut der alkoholisierten Tiere nach Fruktosebelastung deutlich weniger stark an als bei nüchternen Tieren[2], was zusammen mit der beschleunigten Abnahme des Blutalkohols unter Lävulosewirkung für einen oxydoreduktiven Umsatz von Alkohol und Brenztraubensäure spricht.

[1] W. W. WESTERFELD, E. STOTZ und R. L. BERG, J. biol. Chem. *144*, 657 (1942); *149*, 237 (1943).

[2] A. PLETSCHER, A. BERNSTEIN und H. STAUB, Helv. physiol. acta *10*, 74 (1952).

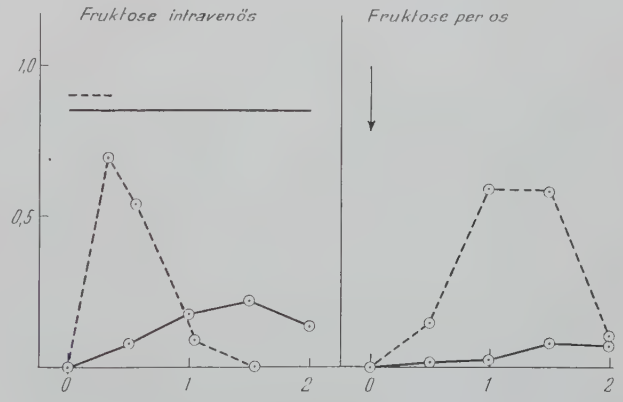
[3] A. PLETSCHER, H. FAHRLÄNDER und H. STAUB, Helv. physiol. acta *9*, 46 (1951).

In der vorliegenden Mitteilung wird über die Wirkung der Fruktose auf die Alkoholabbaugeschwindigkeit beim Menschen berichtet.

Versuchsanordnung. Bei gesunden, nüchternen Versuchspersonen wurden einfache oder doppelte, orale oder intravenöse Alkoholbelastungen ausgeführt und im gleichen Experiment die Geschwindigkeitskonstanten (β) des Alkoholabbaus vor und nach Fruktosezufuhr nach WIDMARK[1] bestimmt. In zwei Experimenten verglichen wir die Alkoholabbaugeschwindigkeit unter aufeinanderfolgender Glukose- und Fruktoseinfusion bei derselben Versuchsperson. Dosierung: 0,9–1,0 g Alkohol je Kilogramm Körpergewicht bei den einfachen Belastungen; 0,7 und 0,35 g je Kilogramm bei den Doppelbelastungen, im Abstand von 3–4 Stunden; 1–1,8 g Lävulose[2] je Kilogramm Körpergewicht, per os oder intravenös als Dauertropfinfusion. Es wurden ferner Brenztraubensäure-, Fruktose- und Gesamthexosekonzentration im Blut sowie Alkohol- und Fruktosekonzentration im Urin bestimmt. Bei 14 Versuchspersonen (darunter 10 Ärzten) wurden 20 Experimente ausgeführt.

Resultate. Objektiv zeigte sich in allen Fällen ein signifikant beschleunigter Abfall der Blutalkoholkonzentration nach Fruktose. Bei der intravenösen Applikation des Zuckers betrug die Beschleunigung im Mittel 70%, bei der oralen Zufuhr durchschnittlich 50% (Tab. I und II). Der Vergleich von Glukose und Fruktose ergab bei beiden Versuchspersonen ein signifikant rascheres Verschwinden des Blutalkohols unter Fruktosewirkung (Tab. III). Die Ausscheidung von Alkohol im Urin war unter Fruktosewirkung nicht vermehrt.

Die Brenztraubensäurekonzentration im Blut der alkoholisierten Personen stieg unter Fruktosewirkung weniger an als bei Kontrollpersonen (Abb.).



Brenztraubensäurekonzentration im Blut

Ordinate: Anstieg der Brenztraubensäurekonzentration in Milligrammprozent. – *Abszisse:* Zeit in Stunden. – *Ausgezogene Kurven:* Alkoholisierte Personen: links Durchschnitt von 10, rechts von 9 Experimenten. – *Gestrichelte Kurven:* Nüchterne Kontrollpersonen: links Durchschnitt von 7, rechts von 4 Experimenten. – *Querstriche:* Infusionsdauer der Fruktose. – *Pfeil:* Orale Einnahme der Fruktose.

Anstieg und Abfall von Fruktosekonzentration und Gesamtreduktion im Blut sowie die Zuckerausscheidung im Urin wurden durch den Alkohol nicht wesentlich beeinflusst.

[1] E. M. P. WIDMARK, *Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung* (Urban & Schwarzenberg, Berlin und Wien 1932).

[2] Die Lävulose wurde uns von der Firma Inopharm AG., Zürich, zur Verfügung gestellt.

Tabelle I

Vergleich von vor und unter Fruktosedauerinfusion

Versuchsperson Nr.	β vor Fruktose $\times 10^{-3}$	β unter Fruktose $\times 10^{-3}$	Zunahme von β %
1	1,81	3,08	70
2	2,88	3,42	19
3	1,08	2,88	170
4	2,83	3,50	24
5	2,00	4,06	103
6	2,16	4,86	114
7	2,40	3,91	63
8	1,48	3,16	114
9	2,58	3,65	47
Mittel	2,14	3,62	69

Tabelle II

Vergleich von vor und nach oraler-Fruktoseaufnahme

Versuchsperson Nr.	β vor Fruktose $\times 10^{-3}$	β nach Fruktose $\times 10^{-3}$	Zunahme von β %
1	1,42	3,00	112
10	2,73	3,74	37
11	1,79	3,20	61
12	2,28	3,37	48
13	2,30	3,00	30
10	3,04	3,68	21
12	2,52	3,48	38
6	2,21	3,98	80
8	2,11	2,97	41
Mittel	2,27	3,38	49

Tabelle III

Vergleich von β unter Glukose- und Fruktosedauerinfusion

Versuchsperson Nr.	β unter Glukose $\times 10^{-3}$	β unter Fruktose $\times 10^{-3}$	Zunahme von β %
1	2,21	3,38	53
14	3,14	3,76	20

Subjektiv trat bei den alkoholisierten Versuchspersonen 5–10 min nach Beginn der Lävuloseinfusion als konstantes Symptom ein unangenehmer, teilweise unerträglich starker epigastrischer Schmerz auf, der manchmal krampfartigen Charakter hatte und gelegentlich in die Kreuzgegend ausstrahlte. Der Schmerz blieb 15 bis 30 min lang bestehen und verschwand ziemlich unvermittelt, ohne dass die Infusionsgeschwindigkeit der Lävulose geändert wurde. In vereinzelten Fällen wurde der beschriebene Schmerz auch nach oraler Lävuloseeinnahme verspürt, aber weniger intensiv und lang. Infusion von Glukose bei Personen unter Alkoholwirkung verursachte keine Beschwerden. Durch Fruktoseinfusion am nicht alkoholisierten, nüchternen Menschen konnte der epigastrische Schmerz nicht hervorgerufen werden. Er erschien aber rasch, wenn während der Lävuloseinfusion Alkohol eingenommen wurde.

Die Empfindung einer raschen Ernüchterung nach Fruktosezufuhr trat bei etwa der Hälfte der Versuchspersonen auf. In den übrigen Fällen konnte in dieser Beziehung kein sicherer Unterschied vor und nach Fruktosezufuhr festgestellt werden.

Diskussion. Die signifikante Zunahme der Geschwindigkeitskonstanten des Alkoholabfalls im Blut unter Fruktosewirkung kommt durch beschleunigten Abbau des Alkohols infolge oxydoreduktiven Umsatzes mit der Brenztraubensäure zustande. Dies geht aus folgenden Befunden hervor:

1. Unter Fruktosewirkung wird die Alkoholausscheidung im Urin nicht vermehrt.

2. Die Brenztraubensäurekonzentration im Blut steigt bei alkoholisierten Menschen nach Fruktosebelastung deutlich weniger an als bei den nüchternen Versuchspersonen, wobei

3. die Fruktosetoleranz durch den Alkohol nicht wesentlich gestört wird.

4. Durch Lävulose, welche intermediär viel Brenztraubensäure bildet, wird die Geschwindigkeit des Alkoholabfalls im Blut stärker beeinflusst als durch Dextrose, welche beim Normalen einen relativ geringgradigen Anstieg der Ketosäure im Blut bewirkt.

Natur und Zustandekommen des epigastrischen Schmerzes konnten nicht abgeklärt werden. Möglicherweise handelt es sich um die Folge einer temporären Anhäufung eines Stoffwechselproduktes, zum Beispiel Azetaldehyd. Dafür spricht, dass bei mehreren Versuchspersonen während der Dauer des Schmerzes ein fruchtartiger Geschmack im Mund sowie Hitzegefühl und leichte Rötung des Gesichtes auftraten. Diastasegehalt in Blut und Urin blieben unverändert, was gegen Pankreasschädigung zu sprechen scheint.

A. Pletscher, A. Bernstein und H. Staub

Medizinische Universitätsklinik Basel, den 16. Mai 1952.

Summary

The decrease of alcohol concentration in the blood and the excretion of alcohol in the urine were measured before and during the administration of levulose in 14 volunteers. The influence of alcohol on the metabolism of levulose was investigated. The experiments show that levulose accelerates the oxydative catabolism of alcohol in man.

PRO LABORATORIO

A Micro Method for the Assay of Arginase Activity in Tissue Homogenates

The recorded methods[1] for the assay of arginase activity are based on the estimation of one of the two products of hydrolysis, urea or ornithine. The direct estimation of urea by xanthydrol precipitation is time-consuming and the titrimetric method for ornithine is only of limited application. The most widely employed method is to determine urea by urease, the use of which renders this method unsuitable for specific inhibition studies on arginase. It is of advantage, therefore, to have a method whereby the arginine, hydrolysed by arginase, could be estimated directly. Such a method dependent on the colorimetric estimation[2] of arginine is outlined in the present note.

[1] D. M. Greenberg, *The Enzymes*, edited by J. B. Sumner and K. Myrbäck (Academic Press, New York 1951), Vol. I, Part 2, p. 902.

[2] H. T. MacPherson, Biochem. J. *40*, 471 (1946).

Reaction mixtures consisting of 4 ml of arginine solution (250 γ arginine monohydrochloride/ml), 3 ml of glycine buffer of pH 9·6 and 3 ml of enzyme solution of appropriate dilution are incubated at 38°C. At intervals of 15 min commencing from the time of addition of the enzyme, 1 ml of the reaction mixture is pipetted into Pyrex test tubes and kept in a boiling water bath for 15 min to arrest the enzyme action, cooled, transferred to a 25 ml flask, and diluted to 10 ml. 1 ml of 10% KOH is added followed by 2 ml of a 0·1% α-naphthol in 50% ethanol. The contents of the flask are mixed. 1 ml of 5% urea is added and the solution thoroughly mixed. 2 ml of a solution of 2 g bromine in 100 ml of 5% KOH are blown in rapidly and the flask shaken vigorously. The solution is then made up to 25 ml, and the colours developed are read after 15 min in a Lumetron Photoelectric Colorimeter (Green filter 530 mμ) against a blank containing all the above reagents excepting arginine. The intensity of the colour developed is linear over the range 25–150 γ of arginine (*vide* Fig. 1). The enzyme is prepared by grinding 1 g of tissue with 5 ml of distilled water and 5 ml of phosphate buffer (pH 7·0). Dilutions may be made from this stock solution as and when desired.

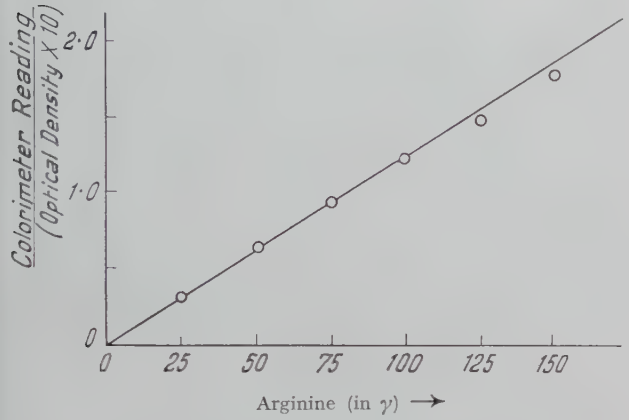


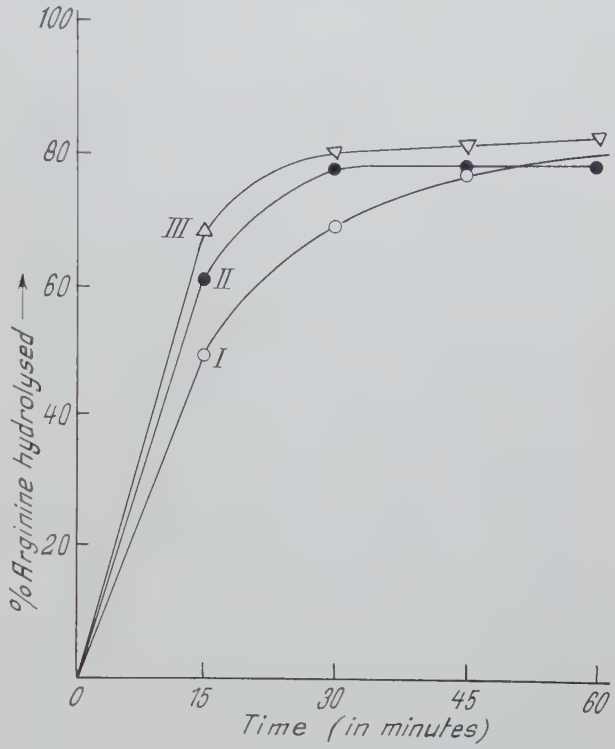
Fig. 1.—Standard curve for Arginine, 530 mμ green.

Besides obviating the necessity of employing urease in the analytical procedure, the adavantages of the present method over the existing ones[1] are:

(1) that it is applicable to extremely low concentration of substrate and enzyme, and can be adapted for biopsy specimens;

[1] D. M. Greenberg, *The Enzymes*, edited by J. B. Sumner and K. Myrbäck (Academic Press, New York 1951), Vol. I, Part 2, p. 902.

(2) that it dispenses with the necessity of estimating the reaction product urea and gives a direct measure of the arginine being hydrolysed; and



Enzyme concentration
I 1 in 144
II 1 in 108
III 1 in 72

Fig. 2.—Hydrolysis of Arginine by Arginase.

(3) that about 80% hydrolysis of arginine is obtained (vide Fig. 2) whereas the earlier methods give only 65–70%[1] cleavage.

S. N. Iyer and C. R. Krishna Murti

Central Drug Research Institute, Lucknow, India, May 15, 1952.

Zusammenfassung

Es wurde eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung der Arginaseaktivität im Gewebe entwickelt. Das Verfahren basiert auf der Farbreaktion von Sakaguchi. Während der Hydrolyse lässt sich das Verschwinden des Substrats unmittelbar feststellen. Überdies ist die Verwendung von Urease, wie beim üblichen Vorgehen, nicht erforderlich. Mit der neuen Methode können spezifisch hemmende Wirkungen auf die Urease untersucht werden.

[1] D. M. Greenberg, loc. cit.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Stratigraphy and Sedimentation

By W. C. KRUMBEIN and L. L. SLOSS
507 pages with 123 figures
(Freeman & Co., San Francisco, 1951)
($5.00)

Analyse: Cet ouvrage est le plus complet du genre, depuis celui de GRABAU, paru en 1913. Comme l'indique son titre, il traite de la stratigraphie en relation avec la sédimentation. La variété des sujets traités est considérable: Aperçu historique, théories de WERNER et de HUTTON, principe actualiste de LYELL; très instructif tableau synoptique des principales échelles stratigraphiques successivement en usage. Méthodes d'observation d'une coupe sur le terrain, et mesures. Etudes au laboratoire. Interprétation des sondages (chapitre particulièrement neuf). Texture des roches sédimentaires et propriétés qui lui sont liées, couleur, structure et composition minéralogique et chimique. Classification et description des principaux types de roches. Processus d'altération, de transport et de dépôt (surtout détritique). Les milieux sédimentaires, continentaux, de transition, et marins. Données numériques sur le tassement des sédiments, très utiles. Diagénèse. Paléontologie stratigraphique. Les faciès sédimentaires: historique, discussion. Principes de la synchronisation. Le cadre tectonique de la sédimentation. Cartes stratigraphiques et reconstitutions paléogéographiques: historique et discussion des méthodes et interprétations. Abondante bibliographie classée.

Critique: M. KRUMBEIN est, par ailleurs, le premier auteur (à ma connaissance) qui ait signalé avec insistance l'importance des lois à forme logarithmique en géologie, et tous les travaux récents confirment sur ce point la justesse et la profonde valeur de ses vues. Aussi tous ses ouvrages sont-ils toujours accueillis avec le préjugé favorable. Lui-même a pris soin de formuler la principale réserve qu'on puisse faire à son dernier traité: «presque toutes les références proviennent de publications américaines». Tous ceux qui aiment la moderne Amérique regretteront incidemment l'emploi d'unités archaïques, inches, miles et autres. On doit par contre approuver la très nette tendance à donner à l'exposé un caractère à la fois très clair, mais très élevé: à titre de mise au point moderne des remarquables travaux des Américains, l'ouvrage a sa place dans toutes les bibliothèques. Une doctrine nette s'en dégage: la sédimentation est contrôlée par la tectonique. D'autres auteurs au contraire insistent sur l'importance du contrôle climatique. A ce titre encore, par la fermeté de sa position, l'ouvrage de KRUMBEIN et SLOSS doit trouver place dans toutes les bibliothèques, même de ceux qui n'en partagent pas toutes les conclusions. A. CAILLEUX

Chemische Untersuchung von Arzneigemischen, Arzneispezialitäten und Giftstoffen

Von EUGEN BAMANN und ELSA ULLMANN
243 Seiten mit 12 Tabellen

(Erschienen im Selbstverlag des Instituts für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, 1951)

Mit der rapiden Entwicklung der chemischen Industrie nimmt die Zahl der pharmazeutischen Spezialitäten ständig zu. Diese Tatsache bedingt auch die steigenden Ansprüche, die an den analytisch arbeitenden Chemiker gestellt werden, der gezwungen ist, sich ein möglichst breites Wissen anzueignen. Mit dem vorliegenden Werk haben die Autoren der Fachwelt und, wie im Vorwort ausgeführt, speziell dem Studierenden ein Hilfsmittel zur Verfügung gestellt, das geeignet ist, dieses breite Wissen zu vermitteln und darüber hinaus zu selbständigem Arbeiten und Forschen anzuregen.

Diese Monographie hat den Charakter eines Unterrichtsbuches. Der Aufbau ist übersichtlich und klar, und die Gliederung in einen allgemeinen und einen speziellen Teil erleichtert sowohl das Arbeiten im Unterricht als auch das Nachschlagen zwecks schneller Orientierung. Der allgemeine Teil besteht aus mehreren Kapiteln mit Angaben allgemeinen Charakters sowie Ausführungen über die Vorproben, die Abscheidung der Wirkstoffe und ihre Aufteilung in Stoffgruppen.

Der spezielle Teil umfasst vier Fünftel des gesamten Werkes und besteht aus drei Kapiteln, die ihrerseits in übersichtliche Unterabschnitte eingeteilt sind. Dieser spezielle Teil enthält Richtlinien für die Analyse der organischen Stoffe und berücksichtigt die Untersuchung von Geheimmitteln sowie die Abfassung des Untersuchungsberichtes. Die am Schluss aufgeführten zwölf Tabellen vermitteln eine Übersicht über die Hauptgruppen organischer Stoffe und ihre Trennungsverfahren und umfassen zudem die in Untergruppen eingeteilten Verbindungen mit ihren Eigenschaften.

Es ist den Autoren gelungen, in der vorliegenden Monographie in konzentrierter Form das Wesentliche über die chemische Untersuchung von Arzneigemischen, Arzneispezialitäten und Giftstoffen zusammenzufassen, und es ist zu hoffen, dass dieses Unterrichtswerk, das seine Aufgabe in trefflicher Weise zu erfüllen vermag, in Fachkreisen grosse Verbreitung findet. A. STOLL

The Enzymes

Chemistry and Mechanism of Action
(A new encyclopedic work in 4 parts)
Edited by JAMES B. SUMNER and KARL MYRBÄCK
(Academic Press Incorp., New York, 1951)

Vol. I, part 1 p. 1–724 ($13.50)
Vol. I, part 2 p. 725–1361 ($12.80)
Vol. II, part 1 p. 1–790 ($14.80)

Soeben haben die Academic Press Inc. Publishers in New York den dritten Band der Enzyklopädie, «The Enzymes», herausgegeben.

Dieses sehr vielfältige Werk schliesst eine Lücke auf dem in den letzten beiden Jahrzehnten mit grossem Einsatz erforschten Gebiet der Enzyme und wird allen Naturwissenschaftern, die mit diesen in ihren Auswirkungen so heterogenen Stoffen zu tun haben, ein wertvoller Ratgeber sein.

Die Initianten dieser Enzyklopädie, J. B. SUMNER, New York, und K. MYRBÄCK, Stockholm, beides anerkannte Fachleute auf dem Gebiete der Enzymologie, haben darauf verzichtet, eine systematische, lehrbuchartige Zusammenstellung der Erkenntnisse auf dem Gebiete der Enzymforschung zu geben, sondern sie ersuchten 27 verschiedene Fachleute aus den Vereinigten Staaten, Europa und Australien, den heutigen Stand

der Forschung in ihren Fachgebieten zu umreissen und kritisch zu beleuchten, ohne dabei allzusehr auf allfällige Überschneidungen der einzelnen Kapitel achten zu müssen.

Die Herausgeber waren sich der Tücken dieses Vorgehens bewusst und machen auch im Vorwort darauf aufmerksam. Doch gerade durch eine kluge Aufteilung auf 78 gut ausgewählte Kapitel, denen eine meisterhafte Einführung in die Enzymologie vorangestellt wird, konnten störende Wiederholungen vermieden werden.

Andererseits wird gerade infolge der in sich geschlossen einzelnen Kapitel das Werk einem viel grösseren Benützerkreis gerecht. Insbesondere werden die Nichtspezialisten, welche zu diesem Werk greifen, um sich über Einzelfragen oder über spezielle Enzyme und Fermente zu orientieren, welche in ihr eigentliches Arbeitsgebiet eingreifen, die beinahe allen Kapiteln eigene Geschlossenheit als grossen Vorteil werten.

Es würde den Rahmen dieser Besprechung weit überschreiten, wollte man auf einzelne Kapitel besonders eingehen. Es wird jedoch den Leser interessieren, zu wissen, dass er sich in dieser Enzyklopädie sowohl über den Stand der Forschung bei den Einzelfermenten als auch über generelle Probleme, wie zum Beispiel über die Spezifität der Enzyme oder die Relationen zwischen den Enzymen und den Genen, Viren, Hormonen, Vitaminen usw., Auskunft holen kann.

Eine besondere Bedeutung wird bei diesem Werk dem Inhaltsverzeichnis zukommen, welches als Anhang zum vierten Band erscheinen wird. Ob es mit Hilfe dieses Verzeichnisses gelingt, auch noch diejenigen Beziehungen zwischen einzelnen Enzymen und Wirkungsmechanismen aufzufinden, welche oft nur bei der Beschreibung des einen Enzyms erwähnt wurden und im Fachkapitel des anderen Fermentes fehlen, wird das Erscheinen des vierten Bandes zeigen. A. J. Businger

Pflanzliche Infektionslehre

Von E. Gäumann

2., erweiterte Auflage
681 Seiten mit 467 Abbildungen und 107 Tabellen
(Verlag Birkhäuser AG., Basel 1951)
(brosch. Fr. 42.10, geb. Fr. 46.30)

Kurz nach dem Zweiten Weltkrieg erschien Gäumanns *Pflanzliche Infektionslehre*. Was ich vor 6 Jahren über die erste Auflage schrieb, ist in der Folge auch von zahlreichen andern Referenten ausgedrückt worden und gilt noch in vermehrtem Mass von dieser zweiten, stark erweiterten, stellenweise umgearbeiteten und die Kriegs- und Nachkriegsliteratur nachführenden Auflage. Es ist eine elegante Art, der Human- und Veterinärbakteriologie den Dank dafür abzustatten, dass sie einst die Grundlage für das heute stolze Gebäude der pflanzlichen Infektionslehre geschaffen haben. Wenn aber der Botaniker mit seinen alten Schwesterwissenschaften rechnen muss – und wie sehr hat sich der Verfasser bemüht, sich mit den ihnen eigenen Gedankengängen vertraut zu machen –, so ist die Situation heute doch wohl schon so, dass wir zur Abrundung unserer Vorstellungen über Infektion und Immunität der pflanzlichen Daten nicht mehr entbehren können. Dafür, dass Gäumann uns dieses Material in so vollständiger und vorzüglich illustrierter Form zur Verfügung gestellt hat, gebührt ihm Dank. Gerade heute, wo wir das Wirtsterrain mehr als auch schon in den Vordergrund unserer Betrachtungen über Infektionsdisposition, Krankheitslokalisation und Krankheitsverlauf zu stellen bestrebt sind, wird uns der Querschnitt durch das Pflanzenreich zum Erlebnis. Selbstverständlich gibt es bei der Verschiedenheit der Wirtsobjekte und der dadurch bedingten Reaktionsarten und -möglichkeiten Nomenklaturschwierigkeiten, über deren zweckmässigste Lösung – Neuschaffung oder Anpassung – man diskutieren mag. Gäumann hat vorläufig den zweiten Weg gewählt, die Uminterpretationen aber da, wo nötig, immer sehr klargestellt. Das hat zum mindesten den Vorteil, dass Mediziner und Veterinär-Mediziner ohne Schwierigkeiten an die Lektüre des Buches herantreten können, und das scheint mir vorerst das Wesentliche zu sein. A. Grumbach

Die rote Waldameise im Dienste der Waldhygiene

Von K. Gösswald

160 Seiten mit 50 Abbildungen, 6 Farbtafeln
und Bestimmungstabelle
(Metta-Kinau-Verlag, Lüneburg 1952)
(Kart. DM 6.80)

In dem vorliegenden Werke fasst der bekannte Myrmekologe die wichtigsten Ergebnisse seiner jahrzehntelangen Forschungen über die Lebensweise und forstwirtschaftliche Bedeutung der roten Waldameise (*Formica rufa* L.) zusammen. Sie gipfeln in der Erkenntnis, dass die Waldameise zur Erhaltung eines dauerhaft gesunden und ertragreichen Waldes durch Bodenverbesserung, Pflanzenanreicherung und entscheidende Einschränkung von Schadinsekten, insbesondere in Monokulturen, wesentlich beiträgt. Die gehegten Zweifel über den Nutzen von *F. rufa* lassen sich damit erklären, dass man bis anhin nur eine *F.-rufa*-Art kannte, während es in Wirklichkeit deren drei verschiedene, nämlich die grosse, die mittlere und die kleine Waldameise zu unterscheiden gilt. Von diesen ist lediglich die letztere (*F. rufa rufo-pratensis minor*) merklich nützlich. Die drei Arten lassen sich jedoch kaum morphologisch, dagegen sicher biologisch unterscheiden. Diese Tatsache ist überraschend und für die Systematik im bisherigen Sinne sehr bedeutsam. Es ist zwar anzunehmen, dass sich gestaltliche und instinktive Besonderheiten in der Regel parallel miteinander entwickeln. Im vorliegenden Falle scheint sich jedoch in erster Linie eine tiefgreifende Differenzierung der Lebensweisen, nicht aber auch eine entsprechende der Gestalt herausgebildet zu haben. Der wissenschaftliche Systematiker wird also zukünftig dazu gezwungen, in den Diagnosen auch die biologischen Charakterzüge seiner Objekte den morphologisch-anatomischen Merkmalen als gleichwertige Positionen zur Seite zu stellen. Es frägt sich, wie weit eine derartig schwerwiegende Konsequenz gezogen werden muss und ob ihre Folgen auch praktisch tragbar sind. Da nämlich offenbar gleich aussehende Tiere verschiedenen Arten angehören können, ist eine sichtbare Bestimmung nur noch auf Grund langwieriger Studien über die Fortpflanzung und Lebensweise vieler Individuen möglich.

In der Schweiz fehlen leider noch entsprechende Untersuchungen. Wir wissen nicht, ob auch bei uns verschiedene *rufa*-Arten vorkommen. Immerhin kann ausgesagt werden, dass die forstwirtschaftliche Bedeutung von *F. rufa* bei uns kaum jene erreicht, die ihr in den Ebenen Deutschlands mit den ausgedehnten Monokulturen zukommt. Trotz den verschiedenen Voraussetzungen und obwohl unsere Waldwirtschaft seit langem den Monokulturen abhold ist, muss das sehr eingehende Buch von Gösswald unserer Forstverwaltung als sehr lehrreich und beachtenswert anempfohlen werden.

H. Kutter

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Zur Chemie des Zellkerns

von K. FELIX[1], Frankfurt

Eine Arbeitsrichtung in der physiologischen Chemie lehnt sich immer mehr an die Morphologie an und sucht zu ergründen, wie die einzelnen Gebilde, die man mit dem Mikroskop in der Zelle wahrnehmen kann, chemisch aufgebaut und welche Funktionen ihnen übertragen sind. Das grösste Interesse beansprucht der Kern, weil er für Leistung und Vermehrung der Zelle sowie für die Übertragung der Erbanlagen unentbehrlich ist. Die ersten Anhaltspunkte über seine Zusammensetzung gaben uns die alten Untersuchungen von MIESCHER[2] und HOPPE-SEYLER[3] über die Kerne der Eiterkörperchen und der Fischspermatozoen.

In neuerer Zeit sind diese Untersuchungen wieder aufgenommen worden, weil inzwischen Methoden ausgearbeitet worden sind, welche die Kerne von der übrigen Zellmasse abtrennen.

Das erste Verfahren hat BEHRENS[4] entwickelt. Er trocknet die Organe erst mit Azeton und Äther und pulverisiert sie dann. Dieses Pulver wird in einer geeigneten Mischung organischer Lösungsmittel suspendiert, deren spezifisches Gewicht so gewählt werden muss, dass die Kerne zu Boden sinken, die anderen Partikelchen aber suspendiert bleiben.

Ein anderes Verfahren haben BENSLEY und HOER[5] ausgearbeitet. Sie bedienen sich der Zentrifuge und trennen die Zellpartikelchen nach der Kraft, die nötig ist, sie auszuschleudern. Für die Kerne genügen bereits 10 min der 600fachen Erdbeschleunigung.

Die Kerne der Fischspermatozoen

Viel einfacher kann man die Kerne der Fischspermatozoen gewinnen, wenn man diese in destilliertem Wasser suspendiert[6]. Unter dem Phasenkontrastmikroskop ist dabei zu beobachten, wie der Zelleib quillt und sich schliesslich vom Kern ablöst. Für die Darstellung kann man dieses Ablösen beschleunigen, wenn man die Suspension ganz kurz homogenisiert.

Die folgenden Bilder zeigen einzelne Stadien der Plasmolyse. Sie sind von Herrn Dr. HUG vom Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt mit dem Elektronenmikroskop aufgenommen und auf das gleiche Mass vergrössert worden, etwa 9350fach.

Das erste Bild zeigt die Spermatozoen der Regenbogenforelle, das zweite dieselben Spermatozoen nach schräger Bedampfung mit Chrom. Das dritte und vierte demonstrieren, wie der Plasmaleib quillt, die Fibrillen im Schwanz sich schlingen und beide sich vom Kern ablösen.

[1] Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt.

[2] F. MIESCHER, Hoppe-Seylers med.-chem. Untersuch. H. 4, 411 (1871); Verh. Basler naturforsch. Ges. *6*, 138 (1874).

[3] F. HOPPE-SEYLER, Med.-chem. Untersuch., H. 4, 486 (1871); Physiol. Chem., Berlin, 1. Aufl. (1881), S. 84.

[4] M. BEHRENS, Z. physiol. Chem. *209*, 59 (1932).

[5] R. R. BENSLEY und N. HOER, Anat. Rev. *60*, 449 (1934).

[6] K. FELIX, H. FISCHER, A. KREKELS und R. MOHR, 1. Mitt. Zs. physiol. Chem. *287*, 224 (1951); 2. Mitt. ebenda *289*, 10 (1951); 3. Mitt. ebenda, *289*, 127 (1952).

Für die präparative Darstellung geht man dann so weiter, dass man die homogenisierte Suspension zentrifugiert. Hierbei setzen sich die Kerne als reinweisses, lockeres Sediment ab. Die überstehende Flüssigkeit enthält sämtliche Bestandteile des Zytoplasmas. Zur weiteren Reinigung werden die Kerne noch mehrmals in destilliertem Wasser suspendiert, kurz homogenisiert und von neuem abzentrifugiert. Das Kernsediment haben wir meistens gleich weiter verarbeitet, einen Teil nur zur Analyse mit Azeton getrocknet.

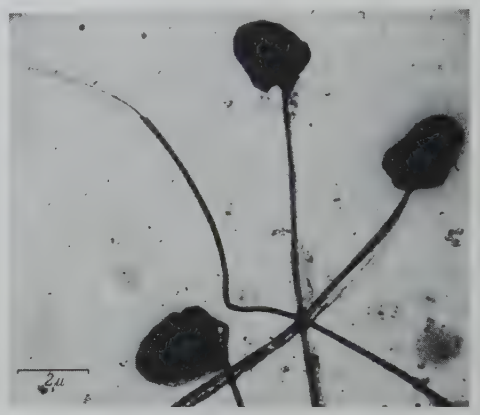


Abb. 1. Spermien der Regenbogenforelle. Übersichtsbild. Samenflüssigkeit mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, osmiumfixiert.

Abb. 2. Spermien der Regenbogenforelle. Übersichtsbild. Zweitaufnahme von Abb. 1 nach Chrombeschattung.

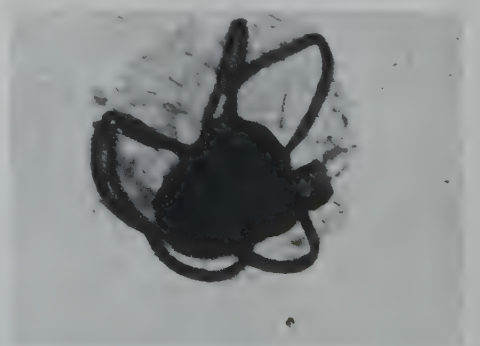


Abb. 3. Spermien 10 min in destilliertem H_2O, osmiumfixiert. 9350fach.

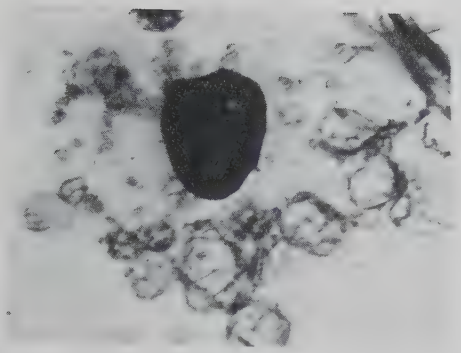


Abb. 4. Spermien 30 min in destilliertem H_2O, osmiumfixiert. 9350fach.

Im fünften Bild sind die isolierten Kerne zu sehen. Sie haben ihre Form, optische Dichte und Kontur nicht verändert; auch der Durchmesser ist der gleiche geblieben. Nur im letzten Bild ist der Rand leicht gewellt, das sind die getrockneten Kerne. Unter dem Einfluss des Azetons sind sie etwas geschrumpft. Die Kerne sind für die Aufnahmen mit Osmiumsäure fixiert worden. Ohne diese Behandlung schmelzen sie im Elektronenmikroskop, wobei sie etwas durchsichtiger werden, aber noch keine Struktur erkennen lassen.

Abb. 5. Spermienköpfe nach Plasmolyse, 30 min abzentrifugiert. 9350fach.

Abb. 6. Spermienköpfe mit Azeton getrocknet. 9350fach.

Auf die beschriebene Weise haben wir die Kerne aus den Spermatozoen der Regenbogen- und Bachforelle sowie des Saiblings dargestellt und in getrockneten Proben Stickstoff, Phosphor und Arginin bestimmt; ferner Farbenreaktionen auf einige Aminosäuren angestellt. Danach waren Zystin, Tyrosin und Tryptophan nicht vorhanden. Der Gehalt an Stickstoff, Phosphor und Arginin war bei allen drei Kernarten von der gleichen Grössenordnung, wie die erste Tabelle zeigt. Das Verhältnis N:P wechselt innerhalb enger Grenzen; das von Phosphor zu Arginin ist durchweg fast wie 1:1[1].

[1] Es ist nicht genau gleich 1, sondern immer etwas weniger Arginin vorhanden, das heisst, nicht jeder Phosphorsäurerest der Nukleinsäure ist durch Arginin neutralisiert. Der eine oder andere Phosphorsäurerest ist vielleicht durch die Aminosäure an den Aminoenden der Peptidketten (vorwiegend Prolin) neutralisiert. Einigen Phosphorsäureresten steht wahrscheinlich keine basische Gruppe des Protamins gegenüber. Im Clupein des Herings und wahrscheinlich auch in den anderen argininreichen Protaminen kommt die Kombination von 4 Argininresten nebeneinander häufig vor, aber dazwischen sind Dipeptide aus Monoaminosäuren geschaltet. Die diesen gegenüberstehenden Phosphorsäurereste werden nicht neutralisiert.

Tabelle I

Analyse der Kerne

	N	P	N:P	Arg	P:Arg
Salmo irideus, Regenbogenforelle .	19,67	5,87	3,35		
Salmo fontinalis Mitch., Saibling .	19,78	5,88	3,36	30,44	1:0,94
Salmo trutta, Bachforelle	19,80	5,72	3,46	30,42	1:0,947

Mirsky und Pollister[1] haben als erste beobachtet, dass sich die Nukleoproteide der Kerne verschiedener Gewebe in 10% NaCl-Lösung auflösen. Die Kerne unserer Forellenspermatozoen gaben eine sehr viskose Lösung und hinterliessen keinen Rückstand.

Nukleoprotamine einziges Eiweiss der Spermatozoenkerne?

Giesst man diese Lösung der Kerne in destilliertes Wasser ein, dann fällt eine faserige Masse aus, die man leicht um den Glasstab wickeln und mit Wasser waschen kann. Mutterlauge und Waschwasser waren praktisch frei von Stickstoff und von organischer Trockensubstanz. Also ist das gesamte Kernmaterial in der Fasermasse wieder enthalten. Das beweisen auch die Analysen. Die Werte für Stickstoff, Phosphor und Arginin haben sich nicht geändert, auch die Verhältnisse Stickstoff zu Phosphor und Phosphor zu Arginin sind gleich geblieben.

Tabelle II

Analyse der Fasermasse

	N	P	N:P	Arg	P:Arg
Regenbogenforelle .	19,52	5,65	3,43	30,60	1:0,96
Saibling	19,67	5,73	3,43	30,15	1:0,94
Bachforelle	19,67	5,71	3,44	30,20	1:0,94

Aus den weiteren, später noch zu erörternden Analysen der Fasermassen geht hervor, dass sie ausschliesslich aus Protamin und Desoxyribonukleinsäure bestehen; das bedeutet, dass auch der Kern selbst als einziges Eiweiss nur Nukleoprotamin enthält. Eine Einschränkung muss allerdings eingeräumt werden; es könnte sein, dass bei der Plasmolyse ein wasserlösliches Protein herausdiffundiert ist. Wir haben aber dafür bis jetzt noch keine Anhaltspunkte gefunden. Lipoide, die in anderen Kernen regelmässig nachgewiesen wurden, scheinen im Spermatozoenkern nicht oder höchstens in ganz minimalen Spuren vorzukommen; denn das Azeton, mit dem wir die Kerne getrocknet haben, hinterliess beim Verdunsten nur einen minimalen Rückstand.

So schliessen wir aus unseren Befunden, dass der Spermatozoenkern nur aus Nukleoprotamin besteht. In einer Suspension von Kernen des Saiblings haben wir in aliquoten Teilen deren Anzahl und den P-Gehalt bestimmt und daraus den Gehalt eines einzelnen Kerns an Nukleinsäure ermittelt. Wir fanden $5{,}5 \cdot 10^{-6}\,\gamma$. Die

[1] A. E. Mirsky und A. W. Pollister, Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. *28*, 344 (1942).

Zahl ist von der gleichen Grössenordnung wie jene, zu denen die beiden Vendrely[1] sowie Mirsky und Ris[2] bei der Analyse der Kerne verschiedener tierischer Gewebe gekommen sind. Spermatozoen sollen allerdings nach den französischen Autoren nur $3{,}3 \cdot 10^{-6}\,\gamma$ enthalten, weil sie nur den halben Chromosomensatz besitzen. Das trifft auf die Fischspermatozoen, die wir untersucht haben, nicht zu. Aber man darf auf diese Zahlen kein grosses Gewicht legen, denn bei der Zählung der Kerne können zu leicht Fehler unterlaufen.

Chromosomin

Mit unserer Ansicht, dass die Spermatozoenkerne nur aus Nukleoprotamin bestehen, widersprechen wir verschiedenen Autoren.

Da sind zunächst einmal die beiden Stedmans[3], die annehmen, dass die Kerne aus drei Komponenten aufgebaut sind: Protamin, Nukleinsäure und Chromosomin. Letzteres soll ein Protein sein und etwa 10% der Kernmasse ausmachen. Sie kamen zu dieser Vermutung, weil in ihren Versuchen die Bilanz nicht aufging. Die Spermatozoenköpfe haben sie mit Zitronensäure oder verdünnter Essigsäure gefällt, aus dem Niederschlag das Protamin mit verdünnter Schwefelsäure und die Nukleinsäure mit verdünnter Natronlauge extrahiert. Der unlösliche Rest soll das Chromosomin sein, dessen reinste Präparate noch 8% Nukleinsäure enthielten. Nach unseren Versuchen handelt es sich dabei um nichts anderes als um ein denaturiertes Gemisch aus Protamin, Nukleinsäure und einem Eiweiss des Zytoplasmas, das durch die Zitronensäure oder die Essigsäure mit gefällt worden ist.

In unseren Arbeiten über das Clupein, das Protamin des Heringsspermas, haben wir nämlich ebenfalls die Köpfe von den Schwänzen durch Essigsäure getrennt[4]. In dem getrockneten Material, das wir vor dem Krieg gesammelt haben, kann man unter dem Phasenkontrastmikroskop erkennen, wie der Kern noch von einem schmalen Saum Zytoplasma umzogen ist. Es liegen also keine reinen Kerne vor. Darum geben sie auch noch die Reaktionen auf Zystin, Tyrosin und Tryptophan, Aminosäuren, die im Clupein nicht vorkommen. Wenn man aber die getrockneten, durch Essigsäure gefällten Spermatozoenköpfe mit 10% NaCl extrahiert und den filtrierten Extrakt in destilliertes Wasser eingiesst, so bekommt man die gleiche Fasermasse wie aus dem Forellensperma, das auch ungefähr ebensoviel Stickstoff, Phosphor und Arginin enthält. Phosphor verhält sich zu Arginin wieder ungefähr wie 1:1, die Reaktionen auf jene anderen Aminosäuren sind negativ[5].

Wenn man aber die trockenen Spermatozoenköpfe des Herings direkt erst mit Schwefelsäure und dann mit Natronlauge extrahiert, dann bleibt noch ein unlöslicher Rückstand, der etwa 4,5% Nukleinsäure und viel Arginin sowie Zystin, Tyrosin und Tryptophan enthält, also ungefähr dem Chromosomin der Stedmans entspricht.

Nukleoprotamine von Salm und Stör

Zu demselben Resultat kamen wir, als wir getrocknete Spermatozoenköpfe des Salms und des Störs untersuchten, die seinerzeit noch von Kossel dargestellt worden waren und die uns Prof. Kutscher freundlicherweise überlassen hatte. In der Tabelle III sind die Analysen der Kernfasermassen aus den Köpfen der Herings-, Salm- und Störspermatozoen zusammengestellt.

Tabelle III

Analysen der Kernfasermassen von Hering, Salm und Stör

	N	P	N:P	Arg	P:Arg
Clupeus harengus, Hering	19,57	5,68	3,44	30,77	1:0,96
Salmo salar, Salm	20,25	5,39	3,57	29,01	1:0,96
Acipenser sturio, Stör	19,72	5,47	3,60	23,51	1:0,76

Sie enthalten ungefähr gleichviel Stickstoff und Phosphor wie jene der Forellen. Das Verhältnis Stickstoff zu Phosphor ist auch von der gleichen Grössenordnung. Im Nukleosalmin verhält sich Phosphor zu Arginin wieder wie 1:1. Im Nukleosturin, das neben Arginin noch Histidin und Lysin enthält, kommt dagegen auf ein Atom Phosphor bedeutend weniger als ein Molekül Arginin. Ein Teil der Phosphorsäurereste der Nukleinsäure wird durch die beiden anderen Hexonbasen neutralisiert.

Residualchromosom

Sehr viel schwerer wiegen aber die abweichenden Befunde von Mirsky und Ris[1]. Auch sie nehmen drei Bestandteile des Zellkerns an: Protamin oder Histon, Nukleinsäure und ein tryptophanhaltiges Protein. Sie haben ganze Gewebe, Salmerythrozyten und auch Salmspermatozoen mit NaCl-Lösung extrahiert, wobei ihnen ein unlöslicher Rest verblieb, der faserig war und zum grössten Teil aus einem tryptophanhaltigen Protein mit etwas Nukleinsäure bestand. Mirsky sieht diesen Rest als Bestandteil der Chromosomen an und bezeichnet ihn als «Residualchromosom», ist aber vielleicht nicht immer von reinen Kernen ausgegangen. Es könnte diesen noch Eiweiss aus dem Zytoplasma beigemischt gewesen sein. Denn auch in unseren Versuchen mit den trockenen Köpfen der Heringsspermatozoen blieb jenes zystin-, tyrosin- und tryptophanhaltige Eiweiss im unlöslichen Rückstand.

Andere Zellkerne

Wie sich die Frage mit dem Residualchromosom zukünftig auch klären mag, eines ist unbedingt jetzt schon sicher: die Zellkerne der einzelnen Gewebe sind verschieden aufgebaut. Was am Spermatozoenkern gefunden worden ist, darf nicht ohne weiteres auf die Kerne anderer Gewebe und Zellen übertragen werden.

Bei jenen sind die Verhältnisse sehr viel günstiger. Der Spermatozoenkern liegt in einer Zelle, die nur wenig Zytoplasma enthält und nur kurze Zeit lebt. Die Zelle hat nur die eine Aufgabe, eine Eizelle zu befruchten und die väterlichen Merkmale auf die Nachkommen zu übertragen. Darauf ist sie spezialisiert.

Ganz anders ist die Situation bei einer Leber- oder einer Drüsenzelle, die beide viel mehr zu leisten haben. Jene ist zum Beispiel an der Synthese der Blutproteine beteiligt, diese an der Produktion eines fermentreichen

[1] R. Vendrely und C. Vendrely, 1st Internat. Congr. Biochem. Cambridge 1949; Exper. *4*, 424 (1949).

[2] A. E. Mirsky und H. Ris, Nature *163*, 665 (1949).

[3] E. und E. Stedman, Cold Spring Harbor Sympos. Quantitative Biol. *12*, 224 (1947).

[4] K. Felix und A. Mager, Z. physiol. Chem. *249*, 11 (1937).

[5] K. Felix, H. Fischer, A. Krekels und R. Mohr, 1. Mitt. Z. physiol. Chem. *287*, 224 (1951); 2. Mitt. ebenda *289*, 10 (1951); 3. Mitt. ebenda, im Druck.

[1] A. E. Mirsky und H. Ris, J. Gen. Physiol. *31*, 1 (1947).

Sekretes. Die grössere Mannigfaltigkeit der Aufgaben, die einer Zelle übertragen sind, wirkt sich nicht nur auf das Zytoplasma, sondern auch auf den Zellkern aus. Man sieht das schon zum Beispiel darin, dass der Gehalt des einzelnen Kerns an Desoxyribonukleinsäure noch ungefähr so gross ist wie derjenige der anderen Zellen. Aber bezogen auf die Einheit der Kernmasse ist er bedeutend geringer geworden[1]. Der Kern enthält mehr Eiweiss und andere Substanzen, wie zum Beispiel Lipoide, Fermente, freie Aminosäuren und sogar Vitamine[2], wobei es aber immer fraglich ist, ob das in den Kernen aufgefundene Material wirklich ein integrierender Bestandteil derselben ist oder ob es nur aus dem Zytoplasma herüberdiffundiert oder absorbiert ist.

Eines aber wird allgemein angenommen, nämlich dass zweierlei Nukleoproteide im Kern vorkommen; eines mit Desoxyribonukleinsäure und das andere mit Ribonukleinsäure als prosthetischer Gruppe. Das erste findet sich bei der Zellteilung in den Chromosomen wieder, das zweite soll nicht regelmässig vorhanden sein und nur im Kernkörperchen auftreten, das ebenfalls nicht immer in den Kernen nachzuweisen ist.

Wir vermuten heute, dass die Nukleinsäuren für die Eiweisssynthese notwendig sind[3]. Die Desoxyribonukleinsäure soll es nur mit dem Eiweiss der Chromosomen zu tun haben, die Ribonukleinsäure mit dem des Zytoplasmas und der Sekrete. Ribonukleoproteide treten nicht nur im Kern, sondern vorzugsweise im Zytoplasma auf. Offenbar wird das Eiweiss des Zytoplasmas nicht nur in diesem, sondern auch im Kern erzeugt. Im allgemeinen weisen nach den Versuchen mit radioaktivem Phosphor die Ribonukleoproteide einen viel lebhafteren Umsatz auf als die Desoxyribonukleoproteide[4]. Nur wenn es auf die Zellteilung zugeht, wenn also zum Beispiel viel Lebergewebe zu regenerieren ist, dann werden auch mehr Desoxyribonukleoproteide umgesetzt.

Das Eiweiss in diesen Nukleoproteiden ist noch nicht genau bekannt. Jedenfalls enthält es bedeutend mehr Aminosäuren als die Protamine. Eine Gruppe dieser Kerneiweisse gleicht aber noch den Protaminen durch ihren hohen Gehalt an basischen Aminosäuren. Es sind dies die Histone. Das erste Histon wurde aus den Kernen der roten Vogelblutkörperchen isoliert. Am besten untersucht ist das aus der Thymusdrüse. Nach den Ergebnissen von Mirsky und Mitarbeitern[5] scheint aber in allen Zellkernen tierischer Gewebe ein Histon vorzukommen. Einige Fischarten enthalten übrigens in ihren Spermatozoen ebenfalls Histone. Wahrscheinlich ist das Histon der Eiweisskörper, der mit der Desoxyribonukleinsäure salzartig verbunden ist. Somit dürfte das Nukleohiston das Eiweiss der Chromosomen, das heisst dem Nukleoprotamin homolog sein.

Mirsky hat in einigen Histonen die Aminosäuren bestimmt. Es fällt auf, dass sie unabhängig von der Herkunft ziemlich gleichmässig zusammengesetzt sind. Allen fehlt das Tryptophan[5].

Das zweite Nukleoproteid der Zellkerne mit der Ribonukleinsäure als prosthetischer Gruppe ist noch ganz unbekannt. Wahrscheinlich enthält es noch mehr Aminosäuren als das Histon, unter ihnen vielleicht auch Tryptophan, aber die basischen Aminosäuren überwiegen nicht mehr. So kommt es, dass das Protein nicht nur salzartig, sondern noch irgendwie apolar an die Nukleinsäure gebunden ist. Diese Nukleoproteide lassen sich nicht durch verdünnte Säuren und Alkalien oder Kochsalz in die beiden Komponenten zerlegen.

[1] H. Ris und A. E. Mirsky, J. Gen. Physiol. *33*, 125 (1949).

[2] A. L. Dounce, G. H. Tishkoff, S. R. Barnett und R. M. Freer, J. Gen. Physiol. *33*, 629 (1950).

[3] R. M. Campbell und H. W. Kosterlitz, J. Physiol. *106*, 12 (1947). – J. N. Davidson, Cold Spring Harbor Sympos. Quantitative Biol. *12*, 50 (1947).

[4] E. Hammarsten und G. Hevesy, Acta physiol. scandin. *11*, 335 (1946).

[5] M. M. Dale, A. E. Mirsky und H. Ris, J. Gen. Physiol. *34*, 439 (1951).

Fermente des Spermatozoenkerns

Es sei noch einmal auf den Fermentgehalt der Kerne hingewiesen. In den meisten hat man, neben manchen anderen, eine Phosphatase aufgefunden. Sie fehlt aber in den Kernen der Forellen- und verwandten Spermatozoen. Die ganze Phosphataseaktivität derselben findet sich in der Zytoplasmafraktion und nicht in den Kernen.

Kerne von Saiblingsspermatozoen verzehrten im Warburgversuch keinen Sauerstoff.

Nukleoprotamin als Überträger der Erbanlagen

Wenn wir mit unserer Ansicht recht behalten sollten, dass der Kern der von uns untersuchten Fischspermatozoen nur aus Nukleoprotamin besteht, dann müsste dieses in seiner Zusammensetzung die Unterschiede zwischen den einzelnen Fischarten wiederspiegeln.

A priori könnten sich die Nukleoprotamine schon im Verhältnis von Nukleinsäure zu Protamin unterscheiden. Wir haben dasselbe bis jetzt nur bei dem Nukleoprotamin des Herings, dem Nukleoclupein, bestimmt bzw. aus dem Phosphor- und Arginingehalt sowie aus dem Gehalt an Desoxyribose berechnet. Es liegt bei etwa 60:40. Da auch in anderen Nukleoprotaminen auf ein Phosphor ein Arginin kommt, dürfte bei diesen das Verhältnis ungefähr das gleiche sein.

Weiter könnte die Nukleinsäure jeweils anders zusammengesetzt sein. Sie soll ja einen wesentlichen Anteil an der Genfunktion haben.

Die Desoxyribonukleinsäuren können sich durch den Gehalt an Purin- und Pyrimidinbasen unterscheiden, wahrscheinlich aber noch durch andere Momente, die wir zur Zeit nicht recht übersehen. Mit der Analyse der Nukleinsäure in den Spermatozoenkernen haben wir erst begonnen, Stickstoff und Phosphor bestimmt, und ungefähr bei allen ähnliche Werte gefunden. Im Ultraviolett absorbieren sie das Licht in der gleichen Weise wie alle anderen Nukleinsäuren vermöge des Gehaltes an Purin- und Pyrimidinbasen. Das Molekulargewicht der Nukleinsäure aus den Spermatozoen des Herings liegt nach der Sedimentation in der Ultrazentrifuge bei 800 000[1].

Etwas mehr kann dagegen über die Protamine berichtet werden. Wir haben sie aus den Nukleoprotaminen mit verdünnter Salzsäure extrahiert, aus dem Extrakt die Protaminhydrochloride durch Azeton gefällt, wieder in wenig Wasser gelöst und im gefrorenen Zustand getrocknet. Sie enthalten alle ungefähr gleich viel Stickstoff, unterscheiden sich aber im Gehalt an Aminosäuren voneinander.

Glykokoll fehlt beim Hering, kommt aber in den fünf anderen Protaminen vor. Alanin und Serin fanden wir in allen, Prolin und Valin in fünf Protaminen, nicht aber im Sturin; Threonin nur im Clupein und im Sturin. Isoleuzin tritt in den Protaminen des Herings, der Regenbogen- und Seeforelle auf. Zweifellos ist diese Verteilung der Aminosäuren charakteristisch für die betreffenden Fischarten und reicht offenbar aus, um mit der Nukleinsäure zusammen die Erbfaktoren des Fischvaters auf die

[1] B. Daimler, Diss. Frankfurt a.M. (1951).

Nachkommen zu übertragen. In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, dass Saibling und Bachforelle sich miteinander kreuzen lassen, vielleicht deswegen, weil ihre Protamine so ähnlich zusammengesetzt sind. Man ist etwas enttäuscht, dass dem komplizierten Vorgang der Vererbung ein so einfaches Substrat zugrunde liegen soll. Wir wissen allerdings noch nicht, welchen Anteil die Nukleinsäure daran nimmt. Nach neueren Ansichten soll auch das Zytoplasma hier mitwirken.

Tabelle IV

Zusammensetzung verschiedener Protamine
(molekulares Verhältnis der Aminosäuren)

	Regenbogenforelle	Bachforelle	Saibling	Hering	Lachs	Stör
Glykokoll . . .	2	2	2	—	3	2
Serin	3	3	3	6	5	3
Alanin	2	2	2	4	2	5
Threonin . . .	—	—	—	2	—	1
Valin	4	5	5	4	4	—
Prolin	5	5	5	5	5	—
Isoleuzin . . .	1	—	—	1	—	2
Glutaminsäure .	—	—	—	—	—	1
Arginin	50	50	50	53	55	35
Lysin	2	—	—	—	—	9
Histidin . . .	—	—	—	—	—	7

Eine Frage dürfen wir wohl schon streifen, nämlich die, ob und wie in dem Nukleoprotamin die Chromosomen abgegrenzt und vorgebildet sind. Beantworten können wir sie gegenwärtig noch nicht, aber wenigstens das Nukleoprotamin auf seine Gliederung hin überprüfen. Eingangs erwähnte ich, dass der Kern wie ein homogenes Gel aussieht, das jedoch die Fähigkeit hat, in den faserigen Zustand überzugehen, und vielleicht wird von dieser Fähigkeit bei der Ausbildung der Chromosomen Gebrauch gemacht.

Diese Fähigkeit, Fasern zu bilden, verdankt das Nukleoprotamin zweifellos der Nukleinsäure und ihrem hohen Molekulargewicht.

Nachdem dieses ungefähr 800000 und der Anteil der Nukleinsäure am Nukleoprotamin etwa 60% beträgt, kommt letzterem ein Molekulargewicht von etwa $1{,}3 \cdot 10^6$ zu, und wenn unsere Zahl $5{,}5 \cdot 10^{-6}$ γ Nukleinsäure pro Kern nach Versuchen mit Saiblingsspermatozoen richtig ist, dann enthielte ein Kern etwa $4{,}5 \cdot 10^6$ Moleküle Nukleinsäure bzw. Nukleoprotamin; also genügend, um jedes Gen wenigstens mit einigen 1000 Molekülen auszustatten.

Da die Forellen 24 Chromosomen haben, kämen auf ein Chromosom etwa 190000 Moleküle Nukleoprotamin. Soweit ich orientiert bin, weiss man noch nicht, wieviel Erbanlagen bzw. Gene sie besitzen. Bei der Drosophila kennt man bis jetzt etwa 280, beim Menschen 1000. Nimmt man für die Forelle ebenfalls 1000 Gene an, dann träfen auf ein einzelnes etwa 4500 Moleküle Nukleoprotamin. Solche Rechnungen sind selbstverständlich noch verfrüht, können aber einen ungefähren Anhalt für die Grössenordnungen geben. Bei 4500 Molekülen ist vom statistischen Standpunkt aus wahrscheinlich noch nicht garantiert, dass eine Reaktion in bestimmter Richtung abläuft, zum Beispiel ein Gen in das ihm zugeordnete Ferment umgewandelt wird. Um den Zufall auszuschalten oder weitgehend einzuschränken, muss somit eine strukturelle Ordnung vorgesehen sein.

Die Gliederung des Protamins haben wir bis jetzt erst am Clupein untersuchen können, bei den anderen reichte das Material nicht aus. Nach den Ergebnissen der Elektrophorese und der Ultrazentrifuge ist selbst das schonendst dargestellte Präparat ein Gemisch aus mehreren Komponenten, die sehr ähnlich zusammengesetzt sind und auf eine Monoaminosäure immer zwei Moleküle Arginin enthalten. Deswegen sind sie so schwer voneinander zu trennen. Ihr Molekulargewicht dürfte von 2000 bis 10000 wechseln und im groben Durchschnitt 5000 betragen. Mit einem Molekül Nukleinsäure wären somit rund 100 Moleküle Clupein verbunden.

In noch nicht veröffentlichten Versuchen haben Rauen und Stamm das Clupein mit der Gegenstromverteilung fraktioniert und mehr als 10 Komponenten gefunden. Es ist nicht ausgeschlossen, dass es noch mehr sind, ja dass womöglich die Zahl der Chromosomen erreicht wird.

Die einzelnen Komponenten dürften sich nicht nur durch das Molekulargewicht, sondern noch durch den Gehalt an Monoaminosäuren unterscheiden. Die in geringer Konzentration vorhandenen, wie zum Beispiel das Isoleuzin und das Threonin, können nur in wenigen Komponenten auftreten. In dieser Hinsicht wäre eine gewisse Mannigfaltigkeit möglich, die der Chromosomenzahl gerecht würde; weitere Variationen ergeben sich aus der Anordnung der Aminosäuren in der Peptidkette. Nun sind die Protamine immer mit Nukleinsäure verbunden, und hieraus erwachsen wieder neue Möglichkeiten zur Vielfalt, je nachdem, welche Protaminkomponenten mit der Nukleinsäure verbunden und wie sie entlang ihrer Kette angeordnet sind. Jedem Gen eines Chromosoms könnte eine bestimmte Kombination entsprechen.

Eine Komponente mit einem Molekulargewicht von 4470 haben wir noch daraufhin untersucht, in welcher Ordnung die Aminosäuren in ihr aufgereiht sind. Am Aminoende steht ein Prolinrest und am Karboxylende Arginyl-arginin. Ausserdem haben wir bereits vor dem Krieg das Clupein mit Säuren und Fermenten partiell hydrolysiert und die Spaltprodukte soweit wie möglich voneinander getrennt[1]. Jetzt haben wir die Versuche wiederholt und die Ergebnisse etwas erweitert. Die wichtigsten bis jetzt isolierten Bruchstücke sind ein Dipeptid aus Monoaminosäuren, Alanyl-alanin, Arginyl-arginin, Alanyl-arginyl-arginin, Seryl-arginyl-arginin, Triarginyl-arginin.

Da etwa 34% des gesamten Clupeinstickstoffs in dem Tetrapeptid aus Arginin enthalten waren, muss diese Kombination von 4 Argininmolekülen häufiger vorkommen.

Auch die neuen Ergebnisse passen noch in die Formel, die wir für das Clupein aufgestellt hatten. Nach ihr beginnt die Kette mit einem Prolylrest (Prol), und dann wechseln regelmässig 4 Arginin- mit 2 Monoaminosäureresten (M) miteinander ab, und die Kette endet mit 2 Argininresten [Prol–(Arg–Arg–Arg–Arg–M–M)$_n$–Arg–Arg].

Je nachdem, wo die Spaltung durchgeht, entstehen Tetrapeptide aus Arginin, Dipeptide aus Monoaminosäuren, Tripeptide aus einer Monoaminosäure und 2 Moleküle Arginin oder Arginyl-arginin.

Da die Forellenprotamine ebensoviel Arginin enthalten wie das Clupein, dürften auch hier Arginyl-arginin und Triarginyl-arginin vorkommen.

[1] K. Felix und A. Mager, Z. physiol. Chem. *249*, 11 (1937).

Entstehung der Protamine

Aus den unreifen Testikeln kann man weder mit Säure ein Protamin noch mit Lauge eine Nukleinsäure extrahieren. Hier scheint die Nukleinsäure mit einem komplizierten Protein nicht dissoziabel verbunden zu sein. Dieses Protein dürfte zweifellos mehr, vielleicht sogar alle Aminosäuren enthalten. Wenn nun die Spermatozoen ausgebildet werden und heranreifen, dann wird dieses Eiweiss umgeformt, viele Aminosäuren verschwinden aus ihm, bis schliesslich eine Kombination übrigbleibt, die ausreicht, die Erbeigenschaften zu übertragen. Möglicherweise tritt auf einem Zwischenstadium der Umformung ein Histon auf.

Es verschwinden vor allem die für den Betrieb wichtigen Aminosäuren: Tryptophan, Methionin, Phenylalanin, Tyrosin, Asparaginsäure und Glutaminsäure. Übrig bleiben mehr oder weniger «träge» Aminosäuren. Da nach Ansicht der Genetiker der Kern der Eizelle wahrscheinlich ebenso einfach gebaut ist wie der der Samenzelle, drängt sich die Frage auf, wie aus diesem einfachen Substrat, das nach der hier entwickelten Ansicht den Genen zugrunde liegen soll, die komplizierten Fermentproteine aufgebaut werden. Diese enthalten sehr viele Aminosäuren, vor allem Tyrosin, das überhaupt keinem wirksamen Eiweiss fehlt. Das Material, mit dem die Gene zum Ferment ergänzt werden, befindet sich im Zytoplasma der Eizelle; wäre an sich auch im Zytoplasma der Samenzelle enthalten. Aber letzteres scheint für die Befruchtung und Entwicklung nicht nötig zu sein. Denn es gelang uns, Saiblingseier mit isolierten und gründlich gewaschenen Saiblingskernen künstlich zu befruchten[1]. Sie haben sich wie natürlich befruchtete entwickelt, und die jungen Fischlein unterschieden sich weder in der Gestalt noch in der Farbe noch in der Munterkeit von den anderen. Wenn wir den Vorgängen nachgehen, wie eine Aminosäure nach der anderen aus dem Zytoplasma ein Gen zu einem Ferment ergänzt, bietet sich uns eine neue Gelegenheit, etwas von dem Wirken jenes unbekannten Prinzips zu erfahren, das die Lebensvorgänge ordnet.

Summary

The nuclei of spermatozoa from several species of trout, herring, sturgeon and salmon consist of nucleoprotamines only.

The ratio of phosphorus to arginine almost reaches 1:1 in nucleoprotamine of trout, salmon and herring. Some of the phosphoric acid residues in nucleo-sturine are neutralized by other basic amino acids.

The nucleic acid of the nuclei is exclusively of the desoxyribose type. Ribonucleic acid occurs in cytoplasm of the sperm only.

The molecular weight of nucleoprotamine is about $1{\cdot}3 \times 10^6$. One single nucleus of a certain trout species (Saibling) consists of $4{\cdot}5 \times 10^6$ nucleoprotamine molecules as roughly calculated.

Eggs of a trout species have been artificially fertilized, and from those eggs young fish could be raised which behaved and looked normally.

[1] K. Felix, J. Hartleib und A. Krekels, Z. physiol. Chem. (im Druck).

STUDIORUM PROGRESSUS

Electrophoretic Studies of Milk

Investigations on centrifuged milk of dairy cows

By G. V. Heyndrickx and A. De Vleeschauwer[1], Ghent

Introduction. – The results of the electrophoretic investigations on colostrum, which appeared in the first publication of this series[2], showed the presence of eight fractions (*A* to *H*) in the milk. In view of the results obtained, we ascribed a casein character to the *B* and *G* components and a globulin character to the *H* component. It was not possible to determine the specific nature of the other protein fractions (*A*, *C*, *D*, *E* and *F*) and the place of the albumin peak or peaks in the electrophoresis diagrams. The object of this investigation was to obtain additional information on these problems.

Methods. – By high-speed centrifuging of milk, various portions of the casein are separated out, according to their content in the milk and the applied centrifugal force. Using this principle, three tests were carried out, two on normal milk and one on colostrum. Before dialysis the milk was centrifuged at 7000; 25000 and 38000 × gravity respectively. The milk as well as the sera prepared in this way were dialysed as usual against Michaelis veronal-sodium buffer[3] of pH 8 and ionic strength 0·1. Electrophoresis was carried out at 2°C with a current strength of 25 mA. For this purpose we used the Strübin apparatus[4], described in detail in the numerous publications of Wiedemann[5]. In addition to the electrophoresis tests, the casein content on normal milk samples was determined, while complete chemical fractionation was carried out on the colostrum sample, according to the method of Rowland[6], but with the difference that the albumin was calculated from the difference between the total proteins and the casein plus globulin.

Experimental results and discussion

The results of the electrophoretic examination show in the first place that the quickly-moving component *A* (only 1–2% of the total diagram), which was also found in the former investigation, is identical with the η-component found by Moore and Lynn[7], and is consequently not to be considered as a normal part of the diagram. At any rate, this does not modify the conclusions drawn from the former investigation . To avoid any confusion, the designations of the different components (*A-H*) have not been changed, though the component *A* was not included in the relative percentages.

In Table I the results of the chemical fractionation are shown, and in Table II those of the electrophoretic examination of the two normal milk samples.

[1] State Agricultural University, Coupure 233, Ghent (Belgium).

[2] G. V. Heyndrickx and A. De Vleeschauwer, Bioch. Bioph. acta *6*, 487 (1951).

[3] L. Michaelis, Biochem. Z. *234*, 139 (1931).

[4] Messrs. Strübin & Co., Gerbergasse, Basle (Switzerland).

[5] E. Wiedemann, Helv. chim. acta *30*, 639, 648 (1947); *31*, 40, 2037 (1948); Chimia *2*, 25 (1948); Exper. *3*, 341 (1947); Rev. Hématol. *3*, 251 (1948); Sci. Pharm. *17*, 45 (1949).

[6] S. J. Rowland, J. Dairy Research *9*, 30 (1938).

[7] Dan H. Moore and John Lynn, J. Biol. Chem. *141*, 819 (1941).

Table I

Results of the chemical fractionation of samples of normal milk before and after centrifuging

Nature of the sample	Applied centrifugal force	Total N mg/100 g	Casein-N	
			mg/100 g	as per-cent of total N
Milk(test 1) .		522·4	400·8	76·7
Serum I . .	7,000 × gravity	339·9	209·5	61·6
Serum II . .	25,000 × gravity	269·7	138·5	51·4
Milk(test 2) .		437·8	339·9	77·6
Serum I .	7,000 × gravity	307·3	207·8	67·6
Serum II .	25,000 × gravity	172·5	74·0	42·9
Serum III .	38,000 × gravity	143·5	40·8	28·4

In test 1, two sera were prepared by centrifuging whole milk at 7,000 and 25,000× gravity. The casein nitrogen content, as percent of the total nitrogen, was 76·7% in the milk and decreased to 51·4% in serum II. The results of the electrophoretic examination show that the *B* component decreased from 52·0% in the milk to 36·4% in serum II, while the *G* component increased slightly from 16·4% to 18·1%. Our former investigation on colostrum proved the casein character of *B* and *G* components, and this is now confirmed by the great decrease of the *B* component and also by the very slight rising of the *G* component. The fact that the *B* component presents a great decrease, and that the *G* component only varies slightly, shows that the *B* casein fraction has a much lower stability than the *G* fraction. Since the *C* component decreases from 7·9 to 6·1%, it must be concluded that this fraction has also a casein character. The components *D* and *E* increase from 8·4 and 5·4% in the milk to 16·7 and 11·0% in serum II. From this increase we may ascribe an albumin character to these fractions. The component *H* increases from 3·5 to 7·5%, as was to be expected in view of its globulin character, indicated by the former investigation.

In test 2, three sera were prepared by centrifuging whole milk at 7,000; 25,000 and 38,000× gravity respectively. The casein nitrogen content, as percent of total nitrogen, which was 77·6% in the milk, decreased to 28·4% in serum III. The results of the electrophoretic examination show, first of all, a decrease in the *B* component from 50·5% in the milk to 22·8% in serum III. The content of the second casein fraction, the *C* component, in the milk was 9·3% and in serum III 3·6%, while the third casein fraction *G* decreased from 19·6 to 17·1%. From these results, the same conclusion can be drawn as from test 1: the *B* and *C* components settled much faster than the *G* casein component. The two albumin fractions *D* and *E* increased greatly in the sera. The contents in the milk were 7·5 and 4·0% and in serum III 22·1 and 14·0%. As far as the globulin fraction *H* is concerned, it must be observed that this fraction is divided into two components, H_1 and H_2. The concentrations increased from 2·5 and 1·9% in the milk to 7·1 and 5·9% in serum III.

In test 3, four sera were prepared by centrifuging milk, sampled at the end of the colostrum period. From the results of the chemical fractionation, given in Table III, it appears that the original colostrum contains 76·1% casein nitrogen, as percent of the total protein nitrogen; in the sera this figure drops to the values 65·5, 55·4, 32·3, and 28·6%. The albumin and globulin nitrogen percent increases from 12·1 and 11·8% in the colostrum to 36·1 and 35·3% in serum IV.

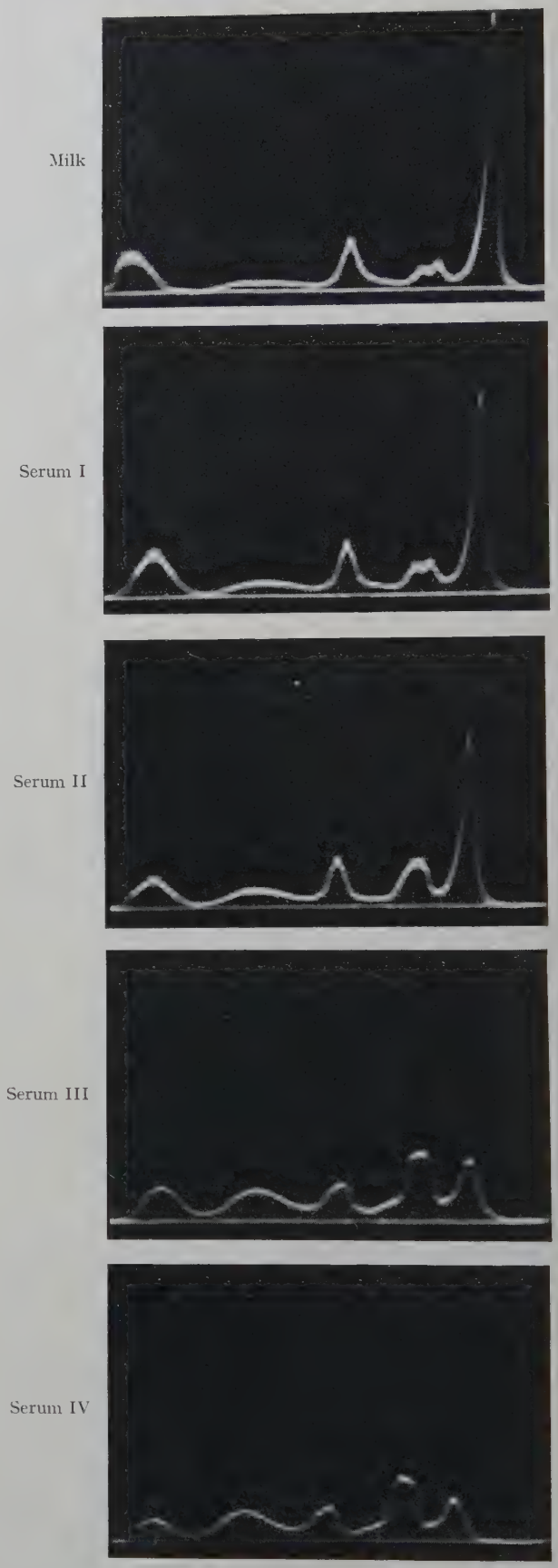


Fig. 1. –Electrophoresis diagrams of milk and the sera, prepared by centrifuging with a centrifugal force varying from 7,000 to 38,000 × gravity. Test 3 (Colostrum)-Rising Boundaries.

Table II

Results of the electrophoretic examination of samples of normal milk before and after centrifuging

Experiment N°	Nature of the sample	*B*	*C*	*D*	*E*	*F*	*G*	H_1	H_2
1. Relative percentage concentrations of the different fractions									
243	Milk (test 1)	52·0	7·9	8·4	5·4	6·4	16·4	3·5	—
241	Serum I	44·0	6·8	12·4	9·1	4·3	17·9	5·5	—
242	Serum II	36·4	6·1	16·7	11·0	4·2	18·1	7·5	—
249	Milk (test 2)	50·5	9·3	7·5	4·0	4·7	19·6	2·5	1·9
247	Serum I	42·5	9·9	10·6	5·9	6·1	18·6	3·9	2·5
246	Serum II	34·1	6·5	16·9	10·3	6·3	17·2	4·9	3·8
245	Serum III	22·8	3·6	22·1	14·0	7·4	17·1	7·1	5·9
2. Mobilities ($\times 10^{-5}$) of the different fractions									
243	Milk (test 1)	7·7	7·0	6·4	5·9	4·7	3·6	1·9	—
241	Serum I	7·8	7·1	6·4	5·8	4·8	3·8	2·0	—
242	Serum II	7·7	7·1	6·4	5·7	4·6	3·7	1·9	—
249	Milk (test 2)	7·4	6·8	6·3	5·9	4·7	3·5	2·2	1·4
247	Serum I	7·6	7·0	6·4	5·9	4·5	3·5	2·0	1·2
246	Serum II	7·7	6·9	6·3	5·8	4·7	3·6	2·5	1·5
245	Serum III	7·6	7·1	6·4	5·9	4·7	3·7	2·4	1·1

Table III

Results of the chemical fractionation of the sample of colostrum before and after centrifuging

Nature of the sample	Applied centrifugal force	Total N mg/100 g	Casein-N	Albumin-N	Globulin-N
			as percent of total protein-N		
Milk (test 3)		720·0	76·1	12·1	11·8
Serum I	7,000 × gravity	547·9	65·5	17·4	17·1
Serum II.	25,000 × gravity	442·4	55·4	22·7	21·9
Serum III	38,000 × gravity/10′	304·4	32·3	34·1	33·6
Serum IV	38,000 × gravity/30′	286·9	28·6	36·1	35·3

Table IV

Results of the electrophoretic examination of the sample of colostrum before and after centrifuging

Experiment No.	Nature of the sample	*B*	*C*	*D*	*E*	*F*	*G*	H_1	H_2
1. Relative percentage concentrations of the different fractions									
254	Milk (test 3)	48·8	10·0	6·3	4·0	5·2	13·2	2·5	10·0
257	Serum I	37·9	12·0	8·5	5·5	5·0	14·6	2·7	13·8
252	Serum II	31·3	10·6	11·6	7·8	4·3	14·3	3·3	16·8
255	Serum III	19·9	3·6	15·8	10·9	6·9	11·2	5·7	26·0
250	Serum IV	15·7	3·0	17·2	11·7	7·0	9·9	7·3	28·2
2. Mobilities ($\times 10^{-5}$) of the different fractions									
254	Milk (test 3)	7·6	6·9	6·3	5·9	4·9	3·7	2·8	1·8
257	Serum I	7·5	6·8	6·2	5·8	4·9	3·6	2·5	1·6
252	Serum II	7·7	7·1	6·4	5·9	4·7	3·7	2·5	1·6
255	Serum III	7·6	7·0	6·4	5·9	4·6	3·6	2·5	1·6
250	Serum IV	7·6	7·1	6·4	5·9	4·6	3·6	2·6	1·6

Examination of the photographs of the electrophoresis diagrams, obtained before and after centrifuged colostrum (Fig. 1), shows clearly the changes in composition of the milk proteins. Since the visual course of the protein composition is similar in all three tests, both on the rising and descending boundaries, only the rising boundaries of test 3 are reproduced.

The results obtained from the electrophoresis diagrams, given in Table IV, show that the first and largest casein component *B* drops from 48·8% in the milk to 15·7% in serum IV. The second and smallest casein component *C*, first increases slightly from 10·0 to 12·0% and afterwards drops to 10·6, 3·6 and 3·0%. The third casein component *G* shows first a small increase from 13·2 to 14·6% and afterwards a decrease to 14·3, 11·2 and 9·9%. The concentrations of the two albumin components *D* and *E* rose from 6·3 and 4·0% in the colostrum to 17·2 and 11·7% in serum IV. With regard to the globulin, we also found two components, H_1 and H_2, which increased from 2·5 and 10·0% in the milk to 7·3 and 28·2% in serum IV.

In view of the varying course of component *F* in the three tests, its protein character is still unknown.

Conclusions. From the investigations on non-centrifuged and centrifuged milk (normal milk and colostrum) we may conclude that three casein fractions (*B*, *C* and *G*), two albumin fractions (*D* and *E*), and one or two globulin fractions (H_1 and H_2) occur in milk. Of the three casein fractions, the *B* component probably corresponds with the α-casein, which is well known in the literature while the *G* component would be identical with the β casein. This hypothesis is justified by the relationship, in concentration as well as in mobility, between the values found for α and β casein by Cherbuliez[1], Hostettler[2], Nitschmann[3], and Warner[4], and our values. From our results it appears moreover that the component *G* is more stable than component *B*. This observation is not in accordance with the results obtained by Hostettler[2], who found an almost constant proportion between α and β casein in the sediments obtained by centrifugation the milk at 1,000 to 17,000× gravity.

An albumin character is attributed to the components *D* and *E* because of their increase in concentration in the sera proportional to the separated casein quantity. Recent research confirms that the albumin, found by application of the chemical fractionation contains at least two fractions, among them the well known β lactoglobulin of Palmer[5]. The mobility of this lactoglobulin is, according to Deutsch[6], 6·1 and according to Briggs and Hull[7] $6{\cdot}3 \times 10^{-5}$. We also found that the lactalbumin contains two fractions, *D* and *E*, of which the *D* component (mobility 6·2 to $6{\cdot}4 \times 10^{-5}$) should correspond with the β lactoglobulin. The results confirm the globulin character of the *H* component, indicated by the former investigation; however we notice that the fraction is sometimes divided into two components H_1 and H_2.

Acknowledgments.–The authors wish to express their thanks to Dr. H. S. Frenkel, Director of the State Veterinary Research Institute at Amsterdam where their first investigations on electrophoresis were carried out under the direction of Dr. L. W. Janssen. They are also greatly indebted to Dr. E. Wiedemann, Member of the scientific Staff of Sandoz Ltd., Basle, and scientific advisor to Messrs. Strübin & Co., manufacturers of the electrophoresis apparatus, for his help and assistance.

Résumé

L'électrophorèse et le fractionnement chimique furent effectués sur des laits et leurs sérums obtenus en soumettant le lait à des forces centrifuges 7000 à 38000 fois supérieures à la pesanteur. De nos résultats, il ressort que dans les sérums obtenus avec des forces centrifuges croissantes, la caséine et les fractions électrophorétiques *B*, *C* et *G* diminuent, alors que l'albumine et la globuline de même que les fractions *D*, *E* et *H* augmentent. Il en résulte également que les fractions *B*, *C* et *G* correspondent à la caséine (*G* est plus stable vis-à-vis de la force centrifuge que *B*), *D* et *E* à la lactalbumine totale et *H* à la globuline. Il est possible que la fraction *A* soit identique au composant *n* de Moore et Lynn, *B* à la caséine alpha, *D* à la bêta lactoglobuline de Palmer et *G* à la caséine bêta.

[1] E. Cherbuliez and P. Baudet, Helv. chim. acta *33*, 398 (1950).
[2] H. Hostettler, E. Rychener, and L. Künzle, Landw. Jber. Schweiz *62*, 31 (1949).
[3] Hs. Nitschmann and H. Zürcher, Helv. chim. acta *33*, 1698 (1950).
[4] Robert C. Warner, J. Amer. chem. Soc. *66*, 1725 (1944).
[5] A. H. Palmer, J. Biol. Chem. *104*, 359 (1934).
[6] H. F. Deutsch, J. Biol. Chem. *169*, 437 (1947).
[7] D. R. Briggs and R. Hull, J. Amer. Chem. Soc. *67*, 2007(1945).

EXPLICATIONES

Fundamentals for Prophylaxis and Therapy of Premature Ageing

By D. A. Korsovsky, Munich[1]

Real understanding of natural processes can only be acquired by studying them as a *whole* and not by dividing them into independent parts. This is especially the case for research, prophylaxis and therapy of premature ageing in man. Modern antisenetics require a whole system of prophylactic measures, well founded experimentally and clinically and taking the organism and its surroundings as a *dynamic whole;* besides this, special symptomatic methods are needed against the heterochronical, heterometrical, and heterotopical signs of ageing. Such facts and observations as are known at present are very dispersed but can form the fundamentals of prophylaxis and therapy of premature ageing.

I. *Energetic Fundamentals*

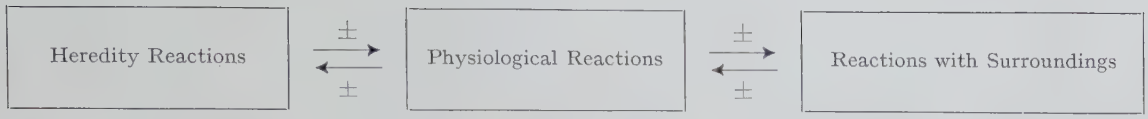
Our studies of the age-problem, extended over many years, have led us to the conclusion that ageing of an organism is a consequence of the *irreversibility* of its individual evolutional energy. Therefore the whole problem of age therapy involves energetics, and the possible reversibility of the regressive symptoms of ageing. Of course such a reversibility in man should not be understood in the sense of a direct homodrome re-metamorphosis of an old man into a child, but means a lasting conservation of life energy at the level of "useful productive" age. This can be established by the following three facts:

(1) Any organism is an *open* system and hence the process of ageing is not subject to the law of entropy. This means in practice that ageing can be retarded or accelerated from *outside*.

(2) As is well known, the human organism during its life uses only one third of its life energy. This fact is in

[1] Aus dem Forschungsinstitut für Arbeitsgestaltung für Altern und Aufbrauch e. V. München.

Scheme:



full harmony with the observation that even in high age the proliferation of cells, regeneration, growing and maturing processes are still going on. This proves that the potence of life is enormously strong and that the prophylaxis of premature ageing consists in discovering *how* to liberate the remaining two thirds of latent energy and to guide it in the required direction.

(3) Inner factors of the reversibility of regressive ageing are sleep, which we can regard as a "periodical, biological rejuvenation", and spiritual energetics generally, the "élan spirituel" (BERGSON) which forms part of the living processes. The central nervous system, and especially its subconscious activity, transforms latent life-potence into productive spiritual and physical energy.

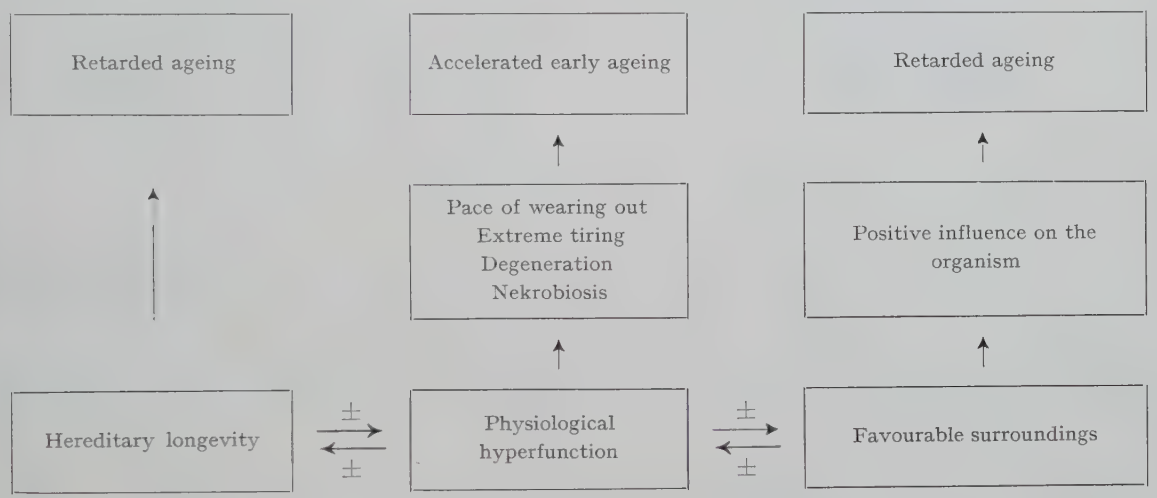
This important rôle of ideas, faith, of the influence of the psyche upon the soma, which checks the symptoms of ageing and preserves a fresh, juvenile, productive power until death should not be underestimated in constructing a modern prophylaxis for premature ageing.

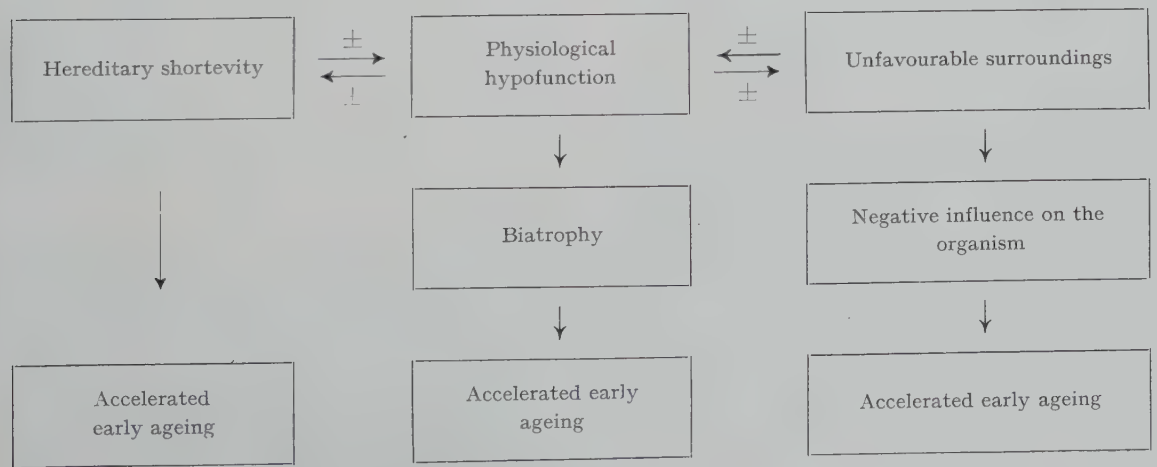
II. *Genetical Fundamentals*

The possibility of working from *outside* upon the organism as an *open* system leads logically to a revision of our conservative theories about the relations between the organism (as regards its genetical constitution) and its surroundings (its "Umwelt") as a biological *whole*. From a holistic point of view, we may regard the organism as a function of its surroundings, reacting permanently with it and transforming its energy into its own.

Heredity is an attribute of life. Heredity factors are also localized in the plasma. Twin research has not as yet been able to prove mainly hereditary conditionality. From this follows, that the gene *alone* cannot be looked upon as the absolute dictator of life. On the other hand, also the surroundings alone do not play the decisive rôle in the development of the organism.

This means that the whole individual development represents a tension of energies between the power field





of the organism and the power field of its surroundings, i.e. between their two potentials of energy, in which assimilation plays the leading and decisive part. The organism and its surroundings therefore constitute a *dynamic whole;* in this the prospective potency of hereditary energy *reacts* with the surroundings (physiological functions).

Maturing and ageing are consequences of this permanent collaboration of endogene (genetically conditioned) and exogene (conditioned by the surroundings) factors of life. Corresponding to these, we can discern primary (genotypical) and secondary (phenotypical) symptoms of ageing, though it is impossible to find a sharp division between them. In this permanent chain reaction between organism and surroundings, there are *three* complexes: Heredity, physiological functions and reactions between organism and surroundings (*vide* p. 321, above).

In these relationships the neuro-endocrine system plays the leading part, preserving the biological balance between the organism and its surroundings. Ectogenesis and prophylaxis of the future must find the way to change the genotypus of the duration of human life.

III. *Biological Fundamentals*

Based upon our present knowledge of 40 endogene and exogene positive and negative factors of individual development, we can discern several hundreds of age variations. This polymorphism forms a broad basis for the prophylaxis of senium praecox, i.e. early reduction and elimination of the negative internal and external influences on the organism. It is obvious that the positive and negative character of these three reaction complexes (heredity, function, surroundings) can influence a balancing compensatory adaptation of the organism to its surroundings, producing earlier or later onset of ageing. The scheme (*vide* p. 321, below) shows this.

The internal prophylaxis, on the one hand, requires neutralization and abolition of the cholesteral contents of blood and tissue growing with advancing age, of all insoluble albumen and the general toxicity of tissue; and, on the other hand, compensation and roburation of the debilitated physiological functions.

IV. *Experimental Fundamentals*

These are founded on the following experimental facts:

(1) The base of ageing is principally *identical* in protists, tissue cultures and multicellular organisms, but manifests itself in different ways. The causal genesis of ageing is therefore not found in the cells only but in the character of internal and external reactions of the individual development, which influences the whole polymorphism of ageing, of vitality, morbidity, mortality, and finally the duration of life of the biological system in question.

(2) With lower animals and plants it has been possible to achieve a remarkable prolongation of life by suitable changes of the surroundings, "limitation (reduction) of the biological system" and avoidance of propagation.

(3) Isolated tissues and organs are able to survive the death of the whole. These facts can be used for the purpose of prophylactic transplantation of young and healthy organs to replace old and defect parts.

(4) The problem of the "artificial" heart and kidney is almost solved, and they may be used for prophylactic purposes.

(5) By suitable nourishment some age symptoms as, e.g. arteriosclerosis, artherosclerosis, arcus senilis and cirrhosis hepatis can be provoked artificially and/or regulated.

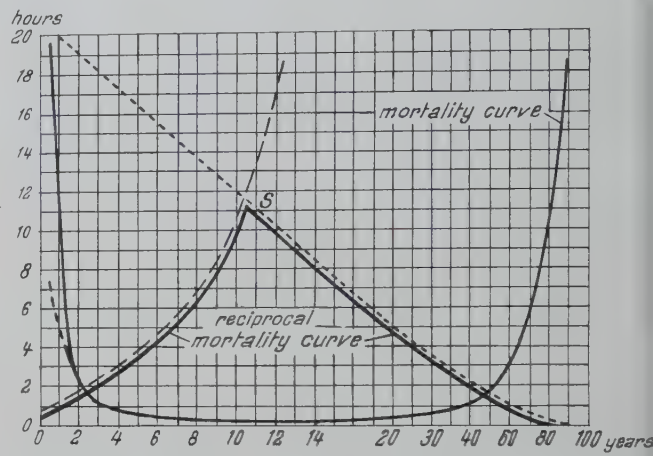
(6) The biological therapy of treating sick organs by injection of living young cells shows new possibilities for prophylaxis against premature ageing.

V. *Thanatological Fundamentals*

Some of these are:–

(1) The duration of life of organism can, as is known, be very variable, between a few hours and several thousand years.

(2) The vitality of man, as seen in the lower frequency of death (mortality), reaches its maximum during the tenth to the twelfth year of life.



Mortality and adaptation shring the life-span (after Pfaundler).

(3) The duration of life in man can be subject to large variations in accordance with internal and external influences. All this shows that on the life curve of the organism there are several points which can serve as the start of prophylaxis against ageing symptoms. Minimal mortality between the 12th and 15th year of life indicates that this prophylaxis must begin during early childhood, because during this period of life the balancing, compensatory and reversible qualities are strongest. In this way gerontology and pediatrics form a logical cycle.

VI. *Clinical Fundamentals*

These are the following:—

(1) Every pathological state is formed by the collaboration of the constitutional disposition of the organism and its surroundings.

(2) The pathological mutations do not multiply as fast as the states of sickness caused by the surroundings, i.e. civilization.

(3) Clinical symptoms of ageing are not specific and can be observed also in other states of sickness.

(4) It is impossible to divide physiological from pathological ageing.

(5) Some pathological processes, e.g. arteriosclerosis, are reversible during childhood.

(6) Mortality in high age is caused in most cases by maladies of the brain, circulation, respiration and excretion system, and therefore a physiological death by age cannot be observed.

All the above-mentioned facts give us the right to look upon pathological ageing as irreversibility of the physiological ageing as a consequence of the radical changes of

the whole organic and functional situation. From this point of view, the pathology of our time enters a new epoch which can be called *individual reaction pathology of the ages.*

VII. *Psycho-somatic Fundamentals*

The importance of the psyche (especially emotional moments) in diverse pathological states, and especially in the beginning of premature ageing in states of fear, give us the task of desensitizing the higher brain centres before starting prophylaxis of senium praecox. This can be attempted by rational education, construction of an optimistic out-look on the world, spiritual discipline and avoidance especially of the fear of death. Finally the high rate of suicides in high age proves, that also the fear "to remain alone and useless" plays an important psycho-social role and calls for corresponding social measures. The psycho-somatic of the future ought to solve the question of the psychic hygiene of premature ageing.

VIII. *Social Fundamentals*

These are based on five fundamental facts, which are:

(1) The intellectual activity starts ageing last.

(2) A healthy and active age is indispensable for society and culture.

(3) The average expectation of life has been doubled during the last 100 years as a consequence of the progress of preventive medicine.

(4) The number of old people is growing steadily in modern society.

(5) Modern "technisated culture" requires from man new often impossible efforts of his vitality, and especially his nervous system, by enlarging the struggle for life and the danger of death.

All this requires a broad international preparation of the suitable prophylactic measures for all strata of society, as these exist already against tuberculosis, cancer, infantile paralysis, etc. The first international gerontological congress (1950) proved very successfully that first steps of great importance are being made in this direction.

Zusammenfassung

Grundlagen der Prophylaxe des vorzeitigen Alterns: 1. Der Organismus ist ein «Offenes System», deshalb ist er dem Gesetz der Entropie nicht unterworfen. 2. Experimentelle Verlängerung des Lebens ist prinzipiell möglich. 3. Einige genetisch bedingte Alterserscheinungen können durch Umweltfaktoren modifiziert werden. 4. Der Mensch nützt zwei Drittel seiner Lebensenergie während seiner individuellen Entwicklung nicht aus. 5. Die Prophylaxe des vorzeitigen Alterns muss im früheren Kindesalter begonnen werden, wenn die Vitalität und die Reversibilität der Alterserscheinungen am stärksten ausgedrückt sind.

References

B. Baguena, *Action inhibitive évidente sur l'artériosclérose cholestérinique du lapin,* Proc. first intern. Gerontol. Confer. Liège (1950), p. 622.

M. Bürger, *Altern und Krankheit* (Verlag Thieme, Leipzig 1947).

H. Driesch, Bios *8*, 323 (1937).

A. Fischer, Z. Altersforsch. *3*, 26 (1942).

D. A. Kotsovsky, Amer. J. Physiol. *9*, No. 2, Vol. IX (1929).

D. A. Kotsovsky, Ergebn. Physiol. *31*, 132 (1931).

D. A. Kotsovsky, Z. ges. Neurol. Psych. *33*, Bd. 5 H, 710 (1931).

D. A. Kotsovsky, Münch. med. Wschr. *2*, 70 (1932).

D. A. Kotsovsky, Wiener klin. Wschr. *16*, 307 (1942).

D. A. Kotsovsky, Hippokrates *21*, 689 (1950).

D. A. Kotsovsky, Med. Mschr. *11*, 815 (1949).

D. A. Kotsovsky, *Social Aspect of Ageing,* Proc. first intern. Gerontol. Confer. Revue Médicale de Liège, Vol. V, No. 20 (1950), p. 718.

D. A. Kotsovsky, Münch. med. Wschr. *37/38*, 1501 (1950).

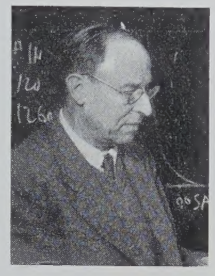
D. A. Kotsovsky, Schweiz. Z. Psychol. Anwendung *10*, 42 (1951).

Holger Hyden and H. Hartelius, *Stimulation of the Nucleoproteinproduction in the Nerve Cells by Malononitrile and its Effect on Psychic Functions in Mental Disorders* (Verlag E. Munksgaard, Copenhagen 1948).

R. Rössle, Exper. *4*, Fasc. 8, 295 (1948).

J. C. Smuts, *Holism and Evolution,* 2nd Ed. (London 1927), deutsch von Meyer-Abich: *Das holistische Weltbild* (Leipzig 1938).

A. Vischer, *Das Alter als Schicksal und Erfüllung* (Verlag Benno Schwabe, Basel 1945).



IN MEMORIAM

Kurt-H. Meyer †

29 septembre 1883–14 avril 1952

La mort de Kurt-H. Meyer, professeur de chimie minérale et organique à l'Université de Genève, décédé le 14 avril 1952 de manière tout à fait inattendue à Menton, pendant un séjour de vacances, constitue une lourde perte pour la chimie organique et biologique.

Esprit très original et doué d'une remarquable puissance de travail, Kurt-H. Meyer laisse derrière lui une riche moisson dans des champs très divers de la chimie organique. Dès le début de sa carrière scientifique, qui l'avait conduit en 1907 à Munich après des études de chimie couronnées par une thèse de doctorat faite à Leipzig sous la direction de Hantzsch, il se consacra d'abord à la chimie organique «classique» qui s'occupe avant tout de corps à petites molécules et qu'on peut distiller ou cristalliser facilement. C'est à cette époque que remontent ses travaux fondamentaux sur la desmotropie céto-énolique: il montra dans une douzaine de publications que les formes énolique et cétonique d'un corps sont deux substances distinctes qu'on peut souvent obtenir à l'état pur, et il mit au point un procédé expérimental remarquablement simple, permettant de doser la proportion de forme énolique présente dans un mélange desmotropique des deux formes. Il publia également des études fort intéressantes sur la copulation des dérivés diazoïques.

De Munich où il fut successivement privat-docent à l'Université (dès 1911), directeur adjoint du laboratoire de chimie physique (1913) et professeur extraordinaire (1917), sa réputation grandissant rapidement lui valut

d'être appelé en 1921 à la direction de la «Badische Anilin- und Soda-Fabrik» et en 1926 à celle de la «IG. Farben-Industrie», à Ludwigshafen. Dirigeant les laboratoires de recherches de ce groupement dont l'importance industrielle n'a pas besoin d'être rappelée ici, il continua de s'intéresser de manière active et heureuse à des problèmes purement scientifiques. C'est ainsi qu'il étudia le phénomène de la fixation des matières colorantes au cours de la teinture et put montrer le rôle de réactions purement chimiques – formation de combinaisons entre matière colorante et certains groupements fonctionnels du substratum – à côté du rôle de processus physico-chimiques de formation de solutions solides du colorant dans la matière de la fibre.

C'est alors – preuve de l'originalité de son esprit – que, frappé par les propriétés étonnantes des substances à teindre: soie, laine, cellulose native ou transformée (soies artificielles), il aborda l'étude des substances naturelles de poids moléculaire élevé. A. Ludwigshafen, il trouva en H. Mark un jeune collaborateur particulièrement précieux. Associant les méthodes physico-chimiques (analyse aux rayons X, étude de la viscosité, etc.) à des procédés d'investigation proprement chimiques, Meyer fut un des premiers à s'attaquer au problème de la forme géométrique de ces énormes molécules prises dans leur ensemble. On peut attribuer à l'influence de son père, Hans Horst Meyer, l'illustre pharmacologue, un intérêt constant pour le retentissement biologique des résultats acquis grâce à l'étude chimique et physico-chimique des corps. Le grand mérite de Kurt-H. Meyer dans ce domaine réside en ceci qu'il sut établir un pont, un lien direct entre propriétés biologiques et constitution chimique. Preuve en soient ses conceptions, devenues classiques, sur les relations entre constitution des molécules protéiques de la fibre musculaire et contractilité de cette fibre, sur les rapports entre constitution du caoutchouc et propriétés de ce produit avant et après la vulcanisation, sur l'interprétation physico-chimique de la perméabilité séléctive des membranes, etc.

Succédant en 1932 à Amé Pictet dans la chaire de chimie minérale et organique de l'Université de Genève, il y a poursuivi une carrière d'une rare fertilité. C'est à Genève qu'il put établir notamment la présence, dans l'amidon, de deux constituants morphologiquement différents: l'amylose, à chaîne linéaire, et l'amylopectine, fortement ramifiée. A Genève encore, il a commencé à porter son attention sur un groupe de corps à grosses molécules, en face de la complexité desquels la chimie s'était trouvée à peu près désarmée jusqu'alors et que l'on commençait seulement à considérer comme des substances pouvant être obtenues à l'état «pur»: les enzymes, en particulier les enzymes amylolytiques. De nouveau, sa maîtrise expérimentale et son intuition lui permirent d'apporter de la clarté dans un domaine très obscur à l'époque; grâce à l'obtention de diverses amylases à l'état pur et cristallisé, il put faire des constatations du plus haut intérêt biologique, comme par exemple le fait que les β-amylases des divers organes d'une seule et même espèce semblent être identiques, mais que, variant d'une espèce à l'autre, elles sont spécifiques de cette dernière et non de l'organe.

Si Kurt-H. Meyer a pu atteindre à cette magnifique productivité, il le doit non seulement à ses qualités intellectuelles, mais aussi à son caractère bienveillant: il savait attirer et retenir auprès de lui des collaborateurs nombreux et dévoués, parmi lesquels nous voudrions citer plus particulièrement M. A. J. A. van der Wyk, dont la collaboration avec Meyer remonte à plus de 20 ans.

C'est en plein essor de ses recherches biochimiques – Kurt-H. Meyer allait les étendre au domaine des hormones protéiques – que cet homme remarquable a été ravi à l'affection des siens, de ses collaborateurs, de ses élèves, de ses collègues, de ses nombreux amis. Sa mémoire devait être rappelée dans *Experientia*, dont il fut un collaborateur fidèle.

E. Cherbuliez

Corrigendum

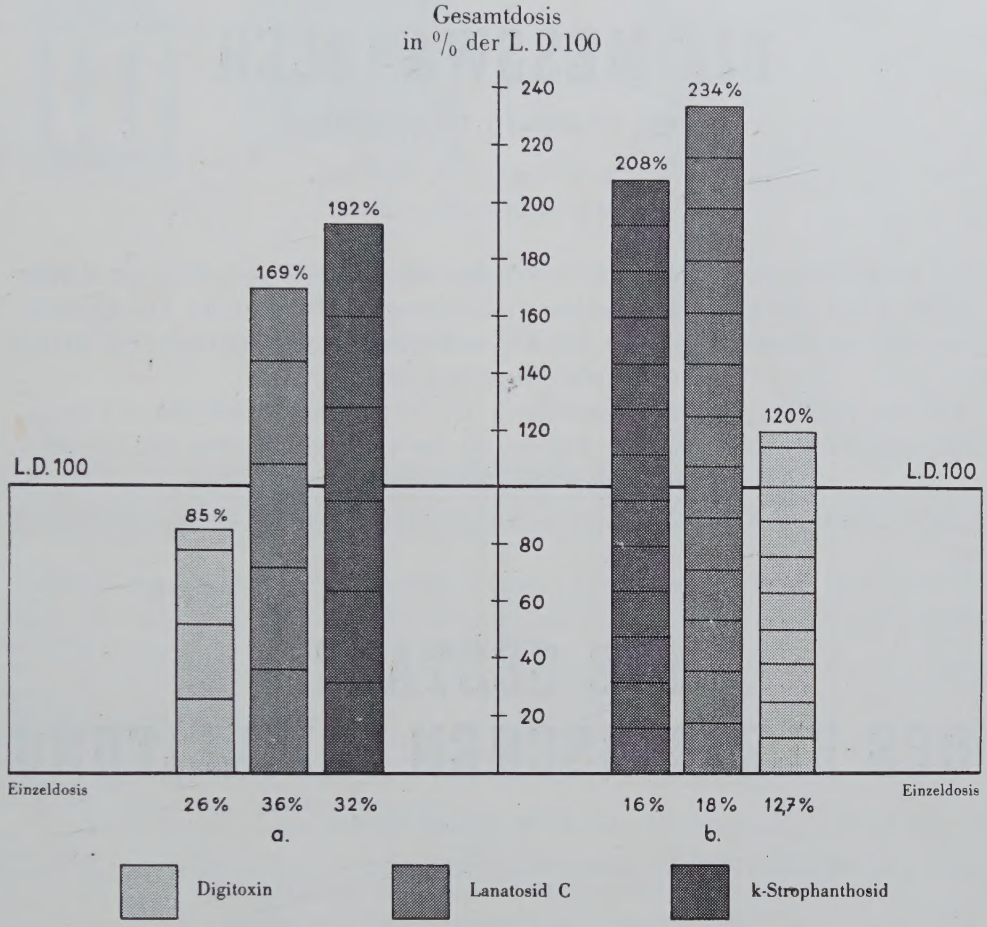
V. Capraro und J. Franceschini, *Die Wirkung des Adrenalins auf den Wassertransport durch die Haut von Rana esculenta*, Exper. *8*, 142 (1952).

Der Autor teilt uns mit, dass in der Formel auf Seite 142 im Nenner der Klammerausdruck rechts

$$\left(\frac{M_2}{1} - 1\right) \quad \text{durch} \quad \left(\frac{M_2}{M_1} - 1\right)$$

zu ersetzen ist.

Mit den pharmakologischen Untersuchungen in den Laboratorien der Sandoz A.G. wurde ein wesentlicher Beitrag zur Differenzierung der verschiedenen herzwirksamen Glycoside geleistet.



Relative toxische Kumulation herzwirksamer Glycoside bei chronischer Verabreichung am Ganztier. Es wird diejenige Gesamtmenge eines herzwirksamen Glycosides, welche zum Tod des Tieres führt, verglichen mit der einmaligen letalen Infusionsdosis nach *Hatcher*

a) bei Verabreichung von grösseren Einzeldosen,
b) bei Verabreichung von kleineren Einzeldosen.

Die Versuche demonstrieren die geringe relative toxische Kumulation von Lanatosid C und k-Strophanthosid.

Suter E., Rothlin E. und Bircher R.: „Glykosidwirkung auf Elektrokardiogramm und Myokard".
Helv. Physiol. Acta 7, 1, 1949

SANDOZ A.G. - BASEL

SANDOZ

Neuerscheinungen aus dem Verlag Birkhäuser

LEHR- UND HANDBÜCHER DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN - BAND 9 UND 21

DIE MESSWANDLER

IHRE THEORIE UND PRAXIS

von Dr. J. Goldstein, dipl. Ing.
Beratender Ingenieur, Zürich

Das Buch stellt eine *vollständig neu bearbeitete und wesentlich ergänzte zweite Auflage* des im Jahre 1928 unter dem gleichen Titel erschienenen Werkes dar. Der Entwicklung auf dem Messwandlergebiet und den wichtigsten Neuerscheinungen der letzten Jahre wird Rechnung getragen.

Aus dem Inhalt: I. Teil: Stromwandler – II. Teil: Spannungswandler – Anhang: Messtechnisches. Es werden der Aufbau, die Berechnungsmethoden und die wichtigsten Nutzanwendungen der Messwandler behandelt.

224 Seiten mit 210 Abbildungen. In Ganzleinenband Fr. 29.10, brosch. Fr. 24.95 (1952)

DIE GESTALT DER ELEKTRISCHEN FREILEITUNG

Von Dr. techn. Milan Vidmar

ordentliches Mitglied der slowenischen Akademie der Wissenschaften und Künste
ordentlicher Professor an der Technischen Hochschule Ljubljana
Direktor des Instituts für Elektrizitätswirtschaft in Ljubljana

Aus dem Inhalt: Das Gestaltproblem – Die Spannweite – Der Querschnitt durch die Dreiphasenleitung – Der Durchmesser des Übertragungsleiters – Die Zustände des Übertragungsleiters – Das Problem des Leitermetalls – Die elektromagnetische Gestalt der Freileitung.

Der vom Transformatorenbau her sehr bekannte Verfasser, der sich seit ungefähr einem Jahrzehnt der elektrischen Energieübertragung zugewandt hat, versucht in diesem Buch die Grundzüge einer Theorie aufzubauen, die die bisherige ziemlich rohe, obgleich erfolgreiche Empirie des Freileitungsbaues ersetzen soll.

200 Seiten mit 49 Figuren. Ganzleinen Fr. 19.75, broschiert Fr. 16.65 (1952)
Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL UND STUTTGART